

Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava

Univerzitní studijní programy

**Příprava nanovláknenných vrstev s obsahem jílových
minerálů pomocí elektrostatického zvlákňování**

**Preparation of clay-containing nanofibrous layers by
electrostatic spinning**

Autor:	Bc. Lenka Bardoňová
Vedoucí diplomové práce:	Mgr. Kateřina Mamulová Kutláková, Ph.D.
Konzultant diplomové práce:	Ing. Adéla Kotzianová, Ph.D.
Datum odevzdání diplomové práce:	15. 5. 2019

Zadání diplomové práce

Student:

Bc. Lenka Bardoňová

Studijní program:

N3942 Nanotechnologie

Studijní obor:

3942T001 Nanotechnologie

Téma:

**Příprava nanovláknenných vrstev s obsahem jílových minerálů pomocí elektrostatického zvlákňování.
Preparation of clay-containing nanofibrous layers by electrostatic spinning.**

Jazyk vypracování:

čeština

Zásady pro vypracování:

V rámci diplomové práce budou připraveny nanovláknenné vrstvy s obsahem vybraného jílového minerálu (vermikulit, kaolinit), případně jílového minerálu interkalovaného chlorhexidinem, jako antibakteriálním činidlem. Praktické části musí předcházet vypracování literární rešerše téma electrospinning jílu s výpisem metod vlákenní, procesů úpravy připravených vrstev, přípravy roztoků, rozpouštědel a využitých analytických metod atd.). Nanovláknenné vrstvy budou připraveny na přístroji 4SPIN LAB, který bude k dispozici ve firmě Contipro a.s. a to po celou dobu vypracování diplomové práce. Tyto nanovláknenné vrstvy budou tvořeny ve vodě nerozpustnými nosnými polymery (polyuretanem, polykaprolaktonem), přičemž jílový minerál bude inkorporován do vrstvy. Připravené materiály budou analyzovány metodami pro ověření nanovláknenné struktury, stanovení obsahu jílového minerálu ve vrstvě a určení stability těchto materiálů (tzn. zejména vymývání jílových minerálů ve vodných roztocích, vliv pH, vliv použitých rozpouštědel, vliv velikosti částic jílu atd.). K charakterizaci připravených materiálů bude k dispozici vybavení společnosti Contipro a.s. a CNT VŠB-TUO. Minimálně by měla být využita Ramanova spektroskopie, energiově disperzní spektroskopie, skenovací elektronová mikroskopie a digitální mikroskopie. Bude provedeno základní testování antimikrobiální účinnosti připravených vrstev.

Seznam doporučené odborné literatury:

WEISS, Zdeněk a Miloš KUŽVART, 2005. Jílové minerály: jejich nanostruktura a využití. Praha: Karolinum. ISBN 80-246-0868-5.

HAIDER, Adnan, Sajjad HAIDER and Inn-Kyu KANG, 2015. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. Arabian Journal of Chemistry. DOI: 10.1016/j.arabjc.2015.11.015. ISSN 18785352.

SAHA, Kasturi, Bhupendra Singh BUTOLA and Mangala JOSHI, 2014. Drug-loaded polyurethane/clay nanocomposite nanofibers for topical drug-delivery application. Journal of Applied Polymer Science. 131(10). DOI: 10.1002/app.40230. ISSN 00218995.

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Kateřina Mamulová Kutláková, Ph.D.**


Konzultant diplomové práce: Ing. Adéla Kotzianová, Ph.D.

Datum zadání: 29.11.2018

Datum odevzdání: 15.05.2019



prof. Ing. Jaromír Pištora, CSc.
vedoucí katedry



Ing. Zdeňka Chmelíková, Ph.D.
prorektorka pro studium

Zásady pro vypracování diplomové práce

I.

Diplomovou prací (dále jen DP) se ověřují vědomosti a dovednosti, které student získal během studia, a jeho schopnosti využívat je při řešení teoretických i praktických problémů.

II.

Uspořádání diplomové práce:

- | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| 1. Titulní list | 6. Abstrakt + klíčová slova česky a anglicky |
| 2. Originál zadání DP | 7. Obsah DP |
| 3. Zásady pro vypracování DP | 8. Textová část DP |
| 4. Prohlášení + místopřísežné prohlášení | 9. Seznam použité literatury |
| 5. Prohlášení spolupracující právnické nebo fyzické osoby o souhlasu se zveřejněním DP | 10. Přílohy |

ad 1) Titulní list je koncipován podle požadavků příslušné oborové katedry.

ad 2) Originál zadání DP student obdrží na své oborové katedře.

ad 3) Tyto „Zásady pro vypracování diplomové práce“ následují za originálem zadání DP.

ad 4) Prohlášení + místopřísežné prohlášení napsané na zvláštním a vlastnoručně podepsané studentem s uvedením data odevzdání DP.

ad 5) V případě, že DP vychází ze spolupráce s jinými právnickými a fyzickými osobami a obsahuje citlivé údaje, je na zvláštním listě vloženo prohlášení spolupracující právnické nebo fyzické osoby o souhlasu se zveřejněním DP.

ad 6) Abstrakt a klíčová slova jsou uvedena na zvláštním listu česky a anglicky v rozsahu max. 1 strany pro obě jazykové verze.

ad 7) Obsah DP se uvádí na zvláštním listu. Zahrnuje názvy všech očíslovaných kapitol, podkapitol a statí textové části DP, odkaz na seznam příloh a seznam použité literatury s uvedením příslušné stránky. Předpokládá se desetinné číslování.

ad 8) Textová část DP obvykle zahrnuje:

- Úvod, obsahující charakteristiku řešeného problému a cíle jeho řešení v souladu se zadáním DP;
- Vlastní rozpracování DP (včetně obrázků, tabulek, výpočtů) s dílčími závěry vhodně členěné do kapitol a podkapitol podle povahy problému;
- Závěr, obsahující celkové hodnocení výsledků DP z hlediska stanoveného zadání.

DP bude zpracována v rozsahu min. cca 45 stran (včetně obsahu a seznamu použité literatury).

Text musí být napsán vhodným textovým editorem počítače po jedné straně bílého nelesklého papíru formátu A4 při respektování následující doporučené úpravy - písmo Times New Roman 12b; řádkování 1,5; okraje – horní, dolní – 2,5 cm, levý – 3 cm, pravý 2 cm. Fotografie, schémata, obrázky, tabulky musí být očíslovány a musí na ně být v textu poukázáno. Budou zařazeny průběžně v textu, pouze je-li to nezbytně nutné, jako přílohy (viz ad 10).

Odborná terminologie práce musí odpovídat platným normám. Všechny výpočty musí být přehledně uspořádány tak, aby každý odborník byl schopen přezkoušet jejich správnost. Matematické vzorce musí být číslovány (v kulatých závorkách). U vzorců, údajů a hodnot převzatých z odborné literatury nebo z praxe musí být uveden jejich pramen - u literatury citován číselným odkazem (v hranatých závorkách) na seznam použité literatury. Nedostatky ve způsobu vyjadřování, nedostatky gramatické, neopravené chyby v textu mohou snížit klasifikaci práce.

ad 9) DP bude obsahovat alespoň 15 literárních odkazů, z toho nejméně 5 v některém ze světových jazyků. Seznam použité literatury se píše na zvláštním listě. Citaci literatury je nutno uvádět důsledně v souladu s ČSN ISO 690. Na práce uvedené v seznamu použité literatury musí být uveden odkaz v textu DP.

ad 10) Přílohy budou obsahovat jen ty části (speciální výpočty, zdrojové texty programů aj.), které nelze vhodně včlenit do vlastní textové části např. z důvodu ztráty srozumitelnosti.

III.

Diplomovou práci student odevzdá ve dvou knihařsky svázaných vyhotoveních, pokud katedra garantující studijní obor neurčí jiný počet. Vnější desky budou označeny takto:

nahoře: *Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava*

uprostřed: *DIPLOMOVÁ PRÁCE*


dole: *Rok* *Jméno a příjmení*

Kromě těchto dvou knihařsky svázaných výtisků odevzdá student kompletní práci také v elektronické formě do IS EDISON. Práce vložená v elektronické formě do IS EDISON se musí zcela shodovat s prací odevzdanou v tištěné formě. Po vložení DP do IS EDISON bude provedena její kontrola na plagiátorství.

IV.

Nesplnění výše uvedených zásad pro vypracování diplomové práce může být důvodem nepřijetí práce k obhajobě. O nepřijetí práce k obhajobě rozhoduje v tomto případě garant příslušného studijního oboru. Tyto zásady jsou závazné pro studenty navazujícího magisterského studijního programu Nanotechnologie Vysoké školy báňské – Technické univerzity Ostrava od akademického roku 2018/2019.

Ostrava 30. 11. 2018


Ing. Zdenka Chmelíková, Ph.D.
prorektorka pro studium
VŠB-TU Ostrava

Prohlašuji, že:

- Jsem byla seznámena s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména § 35 – užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního a § 60 – školní dílo.
- Beru na vědomí, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen „VŠB-TUO“) má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě diplomovou práci užít (§ 35 ods. 3).
- Souhlasím s tím, že diplomová práce bude v elektronické podobě uložena v Ústřední knihovně VŠB-TUO k nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího diplomové práce. Souhlasím s tím, že údaje o kvalifikační práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO.
- Bylo sjednáno, že s VŠB-TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.
- Bylo sjednáno, že užít své dílo – diplomovou práci, nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB-TUO, která je oprávněná v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB-TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).
- Beru na vědomí, že odevzdáním své práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1988 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Ostravě dne:

Podpis:

Jméno a příjmení autora práce: Lenka Bardoňová

Adresa trvalého pobytu autora práce: Komenského 32, Suchdol nad Odrou

V Dolní Dobrouči, dne 18. dubna 2019

Souhlas se zveřejněním diplomové práce

Společnost Contipro a.s. uděluje souhlas se zveřejněním diplomové práce studentky Bc. Lenky Bardoňové, která zde během roku 2018-2019 pracovala na oddělení *Podskupina pro vývoj nanovláknenných struktur* na své diplomové práci pod názvem *Příprava nanovláknenných vrstev s obsahem jílových minerálů pomocí elektrostatického zvlákňování* pod vedením Ing. Adély Kotzianové, Ph.D.


CONTIPRO
Contipro a.s.
IČ: 60917431, DIČ: CZ60917431
doc. RNDr. **Vladimír Velebný, CS.s**
ředitel společnosti
CONTIPRO
Contipro a.s.
IČ: 60917431, DIČ: CZ60917431
Ing. Adéla Kotzianová, Ph.D.
vedoucí Podskupiny pro vývoj
nanovláknenných struktur

Poděkování

Ráda bych poděkovala především Ing. Adéle Kotzianové, Ph.D. a Mgr. Kateřině Mamulové Kutlákové, Ph.D. za vedení diplomové práce, neocenitelné rady a věcné připomínky. Dále mé poděkování patří firmě Contipro a.s., která poskytla zázemí pro vypracování praktické části. Diplomová práce byla podpořena projektem No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/17_049/0008441 "Innovative therapeutic methods of musculoskeletal system in accident surgery" v rámci operačního programu Research and Development for Innovations financovaným Evropskou unií a projektem SP2019/31 financovaným Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

Abstrakt

Cílem diplomové práce bylo připravit samonosné homogenní nanovláknenné vrstvy s obsahem jílových minerálů vermikulitu, kaolinitu a těchto minerálů modifikovaných antibakteriální látkou chlorhexidin acetátem (CH). Nanovláknena byla připravena z hydrofobních polymerů, polyuretanu a polykaprolaktonu. Byly připraveny polymerní suspenze s obsahem 2, 5 a 8 hm. % jílu (vzhledem k celkové váze suspenze), které byly vlákněny pomocí přístroje 4SPIN LAB. Morfologie připravených nanovláknenných vrstev byla charakterizována pomocí digitální a skenovací elektronové mikroskopie, bylo použito EDX mapování a Ramanova spektroskopie pro potvrzení přítomnosti jílových minerálů ve vrstvě a také pro analýzu jejich distribuce. Průměr vláken po přidání jílu poklesl a pohyboval se v rozmezí od 600 nm do 5 μ m. CH byl nalezen jak v jílové matici, tak samostatně ve vláknech jako důsledek nedokonalé interkalace. Vzorky obsahující CH vykazovaly dobrou antibakteriální aktivitu vůči *Staphylococcus aureus*, závislou na míře uvolňování CH z nanovláken.

Klíčová slova: jílové minerály, nanovláknena, elektrostatické zvlákňování, chlorhexidin, antibakteriální aktivita.

Abstract

The aim of this diploma thesis was to prepare self-supporting homogenous nanofibrous layers with a presence of clay minerals vermiculite and kaolinite and these clay minerals modified by antibacterial agent chlorhexidine acetate (CH). Nanofibers were made of hydrophobic polymers, polyurethane and polycaprolactone. Polymer suspensions for electrospinning contained 2, 5 and 8 wt. % (according to the total weight of the suspension) of clay or CH/clay and were electrospun using 4SPIN LAB. Morphology of prepared nanofibrous layers was characterized using digital microscopy and scanning electron microscopy, EDX mapping and Raman spectroscopy was used to confirm the presence of clay minerals in the layer and their distribution. Fibre diameter decreased after adding the clay and was ranging from 600 nm to 5 μ m. Antibacterial CH was found in the clay matrix as well as separately in the fibres (result of imperfect intercalation). Samples containing CH had good antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* dependent upon CH release from the nanofiber mat.

Key words: Clay, nanofibers, electrospinning, chlorhexidine, antibacterial activity.

Obsah

Seznam použitých zkratk a symbolů	13
1. Úvod	14
2. Jíly a jílové minerály	15
2.1. Struktura fylosilikátů	15
2.1.1. Tetraedrická síť	16
2.1.2. Oktaedrická síť	16
2.1.3. Vzájemná vazba tetraedrických a oktaedrických sítí	18
2.1.4. Klasifikace planárních fylosilikátů	19
2.2. Vlastnosti jílových minerálů	21
2.3. Vermikulit	21
2.3.1. Modifikace vermikulitů	22
2.4. Kaolinit	23
2.4.1. Modifikace kaolinitu	24
3. Elektrostatické zvlákňování	25
3.1. Fyzikální princip elektrostatického zvlákňování	25
3.2. Faktory ovlivňující elektrostatické zvlákňování	26
3.2.1. Přikládané napětí	26
3.2.2. Objemový průtok	27
3.2.3. Vzdálenost jehly a kolektoru, průměr jehly	28
3.2.4. Koncentrace polymeru a viskozita roztoku	28
3.2.5. Vodivost roztoku	29

3.2.6.	Rozpouštědla	29
3.2.7.	Relativní vlhkost a teplota	29
4.	Inkorporace aditiv do nanovláknenných vrstev	31
4.1.	Antibakteriální nanovláknna	31
4.2.	Nanovláknna modifikovaná jílovými minerály	33
4.2.1.	Nanovláknna modifikovaná jílovými minerály jako nosiči antibakteriálních látek	35
5.	Praktická část	37
5.1.	Chemikálie a materiály	37
5.2.	Příprava roztoků	37
5.3.	Elektrostatické zvlákňování	38
5.4.	Metody charakterizace	40
5.4.1.	Digitální mikroskopie	40
5.4.2.	Elektronová mikroskopie a EDX mapování	40
5.4.3.	Ramanova spektroskopie	40
5.4.4.	Antimikrobiální testy	41
5.4.5.	Uvolňování chlorhexidinu (testy vyluhovatelnosti)	41
6.	Výsledky a diskuze	42
6.1.	Elektrostatické zvlákňování	42
6.2.	Digitální mikroskopie	43
6.3.	Elektronová mikroskopie	48
6.3.1.	Průměr vláken	52
6.4.	EDX mapování	54

6.5.	Ramanova spektroskopie	57
6.6.	Antimikrobiální testy	62
6.7.	Uvolňování chlorhexidinu	64
7.	Závěr	65
	Seznam citované literatury	66

Seznam použitých zkratk a symbolů

CA	acetát celulózy
CEC	kationtová výměnná kapacita
COS	chitosan-oligosacharid
DCM	dichlormetan
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethyl sulfoxid
Dox	doxycyklin
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
ES	elektrostatické zvlákňování
EDX	energie disperzní rentgenová spektroskopie
HA	hydroxyapatit
CH	chlorhexidin acetát
CH/Kao	kompozit chlorhexidin acetát/kaolinit
CH/Ver	kompozit chlorhexidin acetát/vermikulit
Kao	kaolinit
MMT	montmorillonit
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PAN	polyakrylonitril
PCL	polykaprolakton
PEO	polyetylenoxid
PLA	poly(lactic acid), polymléčná kyselina
PU	polyuretan
PVA	polyvinylalkohol
RTG	rentgen, rentgenový
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
THF	tetrahydrofuran
Ver	vermikulit

1. Úvod

Jíly a jílové minerály jsou lidstvu známy po tisíciletí a našly si své místo v mnoha aplikacích – keramika, stavební materiály, kosmetika a farmacie. Jílové minerály mají vrstevnatou strukturu s jedinečnou vlastností přijmout ionty nebo organické molekuly do svého mezivrství nebo je vázat na svůj povrch. Tato modifikovaná struktura může získat nové fyzikální a chemické vlastnosti a může sloužit jako selektivní sorbent nebo nosič léčiv a antimikrobiálních látek. Výhodou jílových minerálů je jednoduchá modifikace, nízká cena a pro využití v medicíně také nízká nebo nulová toxicita.

Naopak příprava nanovláken pomocí elektrostatického zvlákňování je relativně novou metodou. Technologie elektrostatického zvlákňování sice byla představena již na počátku 20. století, ale nanovláknem byla pomocí této metody připravena až o 90 let později. Nicméně od této doby se elektrostatické zvlákňování neustále vyvíjí a těší se velkému zájmu nejen vědecké společnosti, ale také průmyslu a je považováno za podstatnou vědeckou a komerční oblast s globálními ekonomickými benefity. Nanovláknem připravená elektrostatickým zvlákňováním mají jedinečné vlastnosti jako velký specifický povrch a množství malých pórů, takové vrstvy lze využít v řadě aplikací – v bioinženýrství, biomedicíně, filtraci, elektronice nebo senzorice. Proces elektrostatického zvlákňování také umožňuje inkorporaci aditiv, jako jsou jílové minerály, do polymerní nanovláknenné struktury.

Cílem této diplomové práce bylo připravit samonosné homogenní nanovláknenné vrstvy s přídavkem jednak čistých jílových minerálů (vermikulitu, kaolinitu) a těchto jílových minerálů, které jsou modifikované antibakteriální látkou chlorhexidin acetátem. Chlorhexidin acetát je chemické antiseptikum s baktericidním účinkem proti mnoha gram pozitivním i gram negativním bakteriím. V nízkých koncentracích je používán např. v ústních vodách, čističích kůž pro předoperační mytí rukou i pro omývání ran. Nanovláknem jsou tvořena hydrofobními polymery polyuretanem a polykaprolaktonem za účelem získání ve vodě nerozpustných a odolných vrstev. Nanovláknenné vrstvy byly připraveny pomocí přístroje 4SPIN LAB a obsahují různé množství jílových minerálů nebo kompozitů chlorhexidin/jíl. Následně byla pomocí různých metod studována morfologie nanovláknenných vrstev a jejich antibakteriální účinnost vůči vybraným bakteriálním kmenům. Připravené materiály by mohly být využity v mnoha potenciálních aplikacích vyžadujících biomateriály s dlouhodobou antibakteriální aktivitou bez počátečního tzv. burst efektu (rychlé uvolnění velkého množství aktivní látky najednou).

2. Jíly a jílové minerály

Jíl lze dle definice popsat jako směsný přírodní materiál, primárně složený z jemně zrnitých minerálů, který je obecně plastický při přiměřeném obsahu vody a ztvdne po vysušení či vypálení [1]. Jíly bývají složeny především z fylosilikátů, ale mohou v nich být obsaženy i jiné minerály (krystalické a nekrystalické modifikace SiO_2 , minerály skupiny alofánu, živce, zeolity, karbonáty, oxidy a hydroxidy železa či hliníku) a organická hmota. Tyto příměsi mohou ovlivňovat vlastnosti jílu jako plasticitu či tvrdnutí po vysušení nebo vypálení [2].

Definici jílového minerálu naopak nelze jednoduše specifikovat, proto se spojená nomenklturní komise Association Internationale pour l'Etude des Argiles a Clay Mineral Society [1] dohodla, že minerály přítomné v jílech lze rozdělit do dvou skupin:

- i. jílové minerály – fylosilikáty, minerály skupiny alofánu, některé hydroxidy, oxyhydroxidy a oxidy, které udělují jílu plasticitu a které se vytvrzují po vysušení či vypálení,
- ii. doprovodné minerály – minerály obsažené v jílech nepatřící do skupiny i.

Jílové minerály byly a stále jsou hojně využívány v mnoha oblastech lidské činnosti. Ve starém Egyptě, Číně a Římě byly používány pro kosmetické a léčebné účely, např. k inhibici krvácení. V současnosti jsou používány v keramickém průmyslu, ve farmaceutickém průmyslu (antacidy, antidiarhoika), kosmetickém průmyslu (pleťové masky, krémy, šampony), jako přísady ve stavebnictví, žáruvzdorná plniva, adsorbenty a také jako nosiče léčiv a aktivních látek [3].

2.1. Struktura fylosilikátů

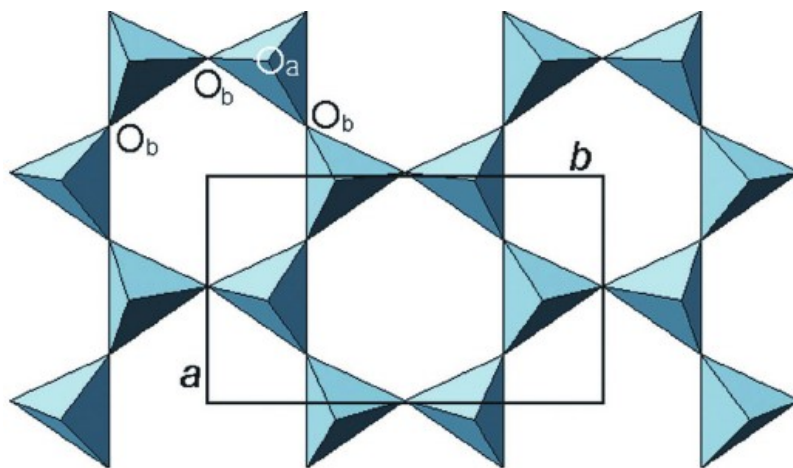
Základní strukturní jednotkou jsou tetraedry $[\text{TO}_4]^{m-}$ a oktaedry $[\text{MA}_6]^{n-}$. Centrálním kationtem tetraedrů (T) je nejčastěji Si^{4+} , ale mohou jím být také např. Al^{3+} , Fe^{3+} nebo Ge^{4+} . Centrálním atomem oktaedrů (M) mohou být např. Al^{3+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} nebo Li^{2+} . Na místě aniontu v oktaedrech (A) se vyskytuje nejen O^{2-} , ale také OH^- či F^- . Tetraedry a oktaedry nejsou ve fylosilikátech pravidelné, ale jsou deformovány. Míra deformace polyedru je závislá mimo jiné na typu centrálního kationtu a typu aniontu [2].

Fylosilikáty lze rozdělit do dvou hlavních skupin – planární a neplanární fylosilikáty. Podle definice planární fylosilikáty obsahují spojitě dvojrozměrné sítě tetraedrů se složením

T_2O_5 , kde jsou tetraedry vzájemně spojeny třemi vrcholy a čtvrtý vrchol směřuje na libovolnou stranu kolmo na rovinu sítě tetraedrů. Sdílením aniontů se spojují se sítěmi oktaedrů a vytváří vrstvy. Vrstvy tvoří základní jednotku struktury a mohou být mezi sebou spojeny systémem vodíkových vazeb, skupinami kationtů s koordinační sférou či jednotlivými kationty. Prostor mezi dvěma vrstvami bývá označován jako mezivrsteví. Mezivrstevní materiál je chápán jako soubor iontů, atomů nebo jejich hydratovaných forem, koordinačních polyedrů či jejich sítí umístěných v mezivrsteví. Neplanární struktury jsou tvořeny vrstvami tetraedrů a oktaedrů 1:1 nebo 2:1. Nicméně tyto vrstvy jsou modulované a dochází u nich k periodickému porušení sítí. Vrstvy mohou být také ohnuté, cylindricky svinuté nebo mohou mít až sféroidní charakter [2].

2.1.1. Tetraedrická síť

Tetraedrická síť je dvojrozměrná periodická síť tetraedrů, v níž jsou tetraedry spojeny třemi vrcholy, a čtvrtý vrchol směřuje na libovolnou stranu kolmo na rovinu sítě tetraedrů (Obr. 1). Ideálně mají hexagonální symetrii $P(6)mm$. Vzhledem k základní ortogonální buňce lze chemické složení vyjádřit jako T_4O_{10} , vzhledem k poloviční hexagonální buňce jako T_2O_5 . Jak již bylo řečeno, v tetraedrech může být Si^{4+} substituován jinými atomy, tyto substituce mají vliv na tvar tetraedru a způsobují v síti jisté pnutí. Síť se deformuje a dochází k její desymetrizaci či ditrigonalizaci [2].

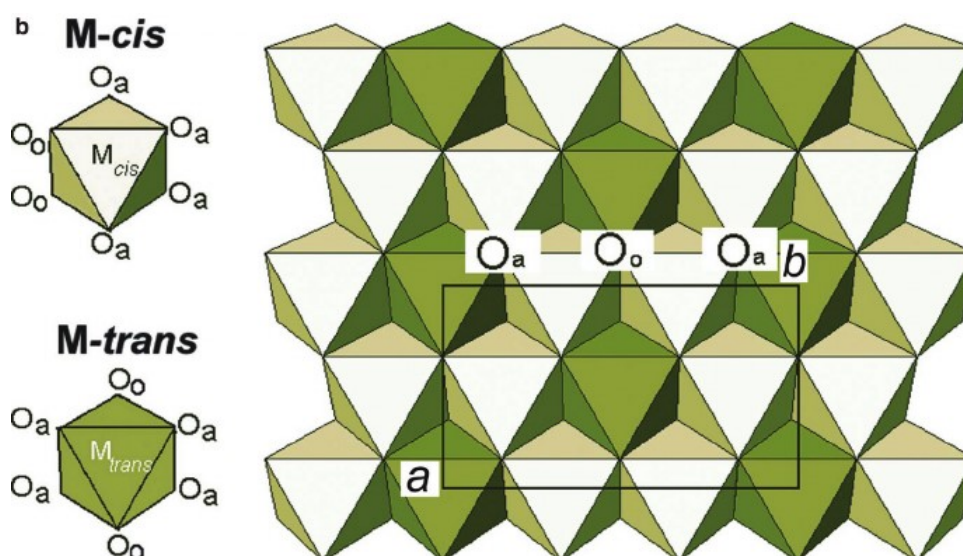


Obrázek 1: Tetraedrická síť, kde O_a značí vrcholové kyslíkové atomy, O_b bazální kyslíkové atomy, a, b jsou parametry základní buňky [4].

2.1.2. Oktaedrická síť

Na rozdíl od tetraedrů oktaedry sdílí nejen vrcholy, ale také polovinu hran. Síť si lze představit tak, že se jeden oktaedr položí jednou z ploch tak, aby jeho trojčetná osa byla kolmá k podložce. Pak se jedna trojice aniontů označí za spodní (ležící na podložce) a druhá

za horní. Přidáváním dalších oktaedrů tak, aby vždy dva z nich měly společnou jednu hranu, vzniknou dvě roviny aniontů. Společnou hranu tvoří sousední anionty, kdy jeden leží v horní a druhý ve spodní rovině (Obr. 2). Rovina oktaedrických kationtů leží uprostřed mezi rovinami aniontů. Centrální kationty mohou být v konkrétním fylosilikátu stejné ve všech oktaedrech, různé, nebo některé pozice mohou být neobsazeny [2].



Obrázek 2: Oktaedrická síť, kde O_a značí vrcholové kyslíkové atomy, O_o značí jiný typ aniontu, a , b jsou parametry základní buňky [4].

Právě podle způsobu obsazení centrálních pozic lze oktaedrické síť rozdělit na 3 skupiny [5]:

- homooktaedrické – centrální pozice v každé trojici sousedících oktaedrů jsou obsazeny stejným způsobem,
- mesooktaedrické – v každé trojici sousedících oktaedrů jsou dvě centrální pozice obsazeny stejným způsobem, třetí je obsazena jiným způsobem (uspořádaně v celé síti),
- heterooktaedrické – v každé trojici sousedících oktaedrů jsou centrální pozice obsazeny jiným způsobem (uspořádaně v celé síti).

Tyto pozice mohou být obsazeny konkrétním kationtem, nebo se zde může vyskytovat vakance (pozice je neobsazená). Nicméně ke zjištění, zda je síť homooktaedrická, mesooktaedrická nebo heterooktaedrická je nutno provést podrobnou strukturní analýzu. Proto se zavádí jiné rozdělení oktaedrických sítí, které si bere za specifikum pouze „obsazení či neobsazení“ centrálních pozic kationty:

- trioktaedrické – všechny oktaedrické pozice jsou obsazeny kationty,

- dioktaedrické – dvě ze tří oktaedrických pozic jsou obsazeny kationty, třetí pozice je vakantní,
- monoktaedrické – dvě ze tří oktaedrických pozic jsou vakantní, třetí pozice je obsazena kationty.

Z této definice plyne, že průměrný počet kationtů v síti připadající na trojici oktaedrů by měl být tři, dva nebo jeden. Avšak v praxi je to komplikovanější a průměrný počet kationtů se často pohybuje mezi hodnotami 2 a 3. Proto byla subkomisí International Mineralogical Association pro nomenklaturu slíd zvolena „umělá“ hranice 2,5 – za dioktaedrickou síť je považována taková síť, jejíž součet oktaedrických kationtů je $< 2,5$ a za oktaedrickou taková, jejíž součet je $\geq 2,5$ [6].

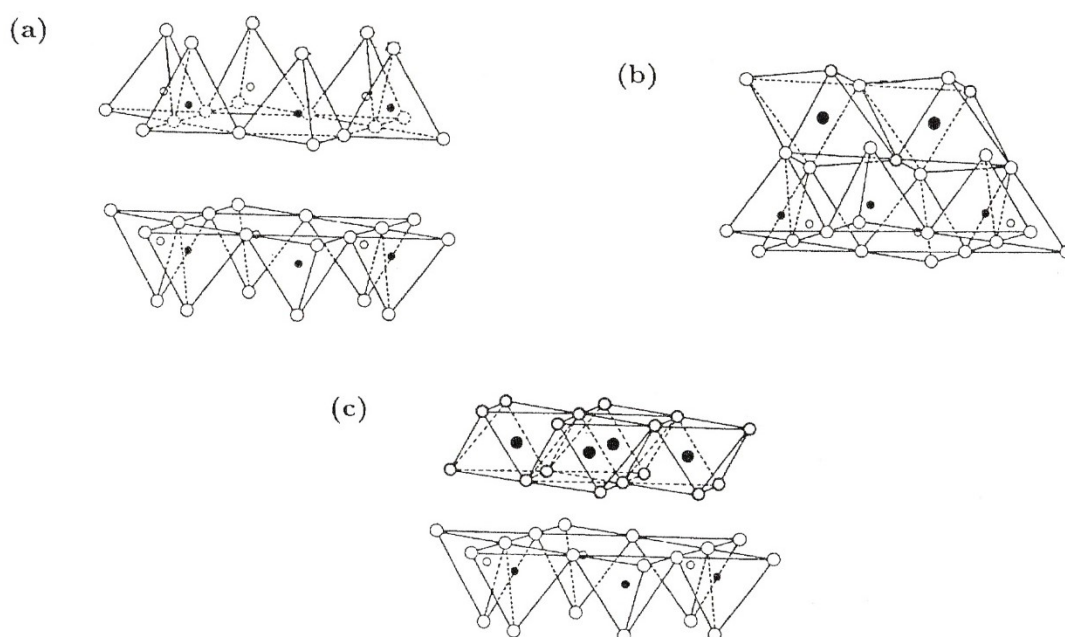
Stejně jako tetraedry, i oktaedry v síti jsou deformované. Velikost oktaedrů a tím i míru deformace určuje způsob obsazení oktaedrických pozic a typ kationtů, jimiž jsou tyto pozice obsazeny. Velikost deformace souvisí s typem oktaedrické sítě [2].

2.1.3. Vzájemná vazba tetraedrických a oktaedrických sítí

Ve strukturách fylosilikátů dochází ke spojení dvou tetraedrických sítí nebo ke spojení tetraedrické a oktaedrické sítě. Díky mnoha možnostem kladu sítí lze vytvářet jak periodické, tak neperiodické struktury a mohou tak vzniknout polytypy. Látku lze označit jako polytypní, pokud se vyskytuje v několika strukturních modifikacích, které jsou budovány z vrstevných jednotek o identické či přibližně identické struktuře a složení. Jednotlivé polytypy (modifikace) se tedy liší pouze kladem vrstevných jednotek. Existují tři hlavní varianty a jim podřazené možnosti, jak lze sítě spojit [2]:

- Spojení dvou tetraedrických sítí přes bazální kyslíky těchto sítí:
 - přímo pomocí van der Waalových sil,
 - pomocí kationtů, které vytváří spolu s bazálními kyslíky koordinační polyedry (vzniklá vazba má iontový charakter),
 - pomocí kationtů s hydratačními obaly – vazba je slabší než v předchozím případě, protože řídicím faktorem je vodíková vazba mezi bazálními kyslíky a hydratačními obaly kationtů.
- Spojení oktaedrické a tetraedrické sítě přes společnou rovinu kyslíkových atomů, vzniklé vazby mají polární kovalentní charakter, běžně se označují jako vrstvy:

- a. **Vrstvy 1:1** – oktaedrická a tetraedrická síť má jednu společnou rovinu kyslíkových atomů a nesdílené kyslíkové atomy tetraedrů vytváří rovinu tzv. bazálních kyslíků.
- b. **Vrstvy 2:1** – oktaedrická a dvě přilehlé tetraedrické sítě mají společné dvě roviny kyslíkových atomů, nesdílené kyslíkové atomy tetraedrů vytváří dvě roviny bazálních kyslíků.
- iii. Spojení oktaedrické a tetraedrické sítě pomocí vodíkových vazeb mezi bazálními kyslíky tetraedrické sítě a rovinou OH^- aniontů oktaedrické sítě.



Obrázek 3: Spojení tetraedrické a oktaedrické sítě ve strukturách fylosilikátů. a) Spojení dvou tetraedrických sítí přes roviny bazálních kyslíků těchto sítí, b) spojení oktaedrické a tetraedrické sítě přes společnou rovinu kyslíkových atomů, c) spojení oktaedrické a tetraedrické sítě přes rovinu bazálních kyslíků tetraedrické sítě a rovinu aniontů OH^- oktaedrické sítě [2].

Vrstvy 1:1 a 2:1 z bodu (ii.) jsou dva typy strukturních jednotek, které se vyskytují u všech fylosilikátů. Vrstvy 1:1 bývají spojeny variantou (iii.), zatímco vrstvy 2:1 bývají spojeny variantou (i.) a ve výjimečných případech variantou (iii.). Jedna vrstva s mezivrstvím poté vytváří základní strukturní jednotku fylosilikátu představující jeho úplné složení [2].

2.1.4. Klasifikace planárních fylosilikátů

Klasifikace je založena především na strukturních a krystalochemických rysech základních strukturních jednotek. Pro klasifikaci jsou využita tyto kritéria:

- i. Typ vrstev (1:1, 2:1),
- ii. Obsah mezivrstev,

- iii. Náboj vrstvy x ,
- iv. Typ oktaedrických sítí (tri-, dioktaedrické),
- v. Chemické složení.

Pomocí kritérií i.– iii. lze fylosilikáty rozdělit do sedmi skupin. Čtvrté kritérium poté každou skupinu dělí na dvě podskupiny. Podle chemického složení jsou v každé skupině a podskupině rozlišovány konkrétní fylosilikáty jejich mineralogickými názvy. V Tab. 1 je uvedeno pouze několik příkladů, výčet konkrétních fylosilikátů není kompletní. Osmá skupina představuje skupinu pravidelně smíšených struktur. Za fylosilikáty se „smíšenou strukturou“ lze označit takové struktury, u nichž dochází k prorůstání základních strukturních jednotek různých typů [2].

Tab. 1: Klasifikace planárních fylosilikátů.

Skupina	Typ vrstev	Mezivrstevní materiál, náboj (x)	Typ oktaedrické sítě	Minerály (příklady)
serpentinu-kaolinu	1:1	bez materiálu, nebo jen H_2O $x \sim 0$	tri-	lizardit, berthierin, amesit
			di-	kaolinit, dickit, nakrit
mastku-pyrofilitu	2:1	bez materiálu, $x \sim 0$	tri-	mastek, willemseit, kerolit
			di-	pyrofilit, feripyrofylit
slíd	2:1	nehydratované jednomocné kationty, $x \sim 0,6-1,0$	tri-	annit, siderofylit, biotit
			di-	muskovit, fengit, seladonit
křehkých slíd	2:1	nehydratované dvojmocné kationty $x \sim 1,8-2,0$	tri-	clintonit, bytyit, anandit
			di-	mergarit, černikit
smektitů	2:1	hydratované vyměnitelné kationty $x \sim 0,2-0,6$	tri-	saponit, hektorit, sauconit
			di-	montmorillonit, nontronit, beidellit
vermikulitů	2:1	hydratované vyměnitelné kationty $x \sim 0,6-0,9$	tri-	trioktaedrický vermikulit
			di-	dioktaedrický vermikulit
chloritů	2:1	hydroxidová síť, x variabilní	tri-, tri	pennin, klinochlor, sheridanit
			di-, di-	donbasit
			di-, tri-	cookeit, sudoit
pravidelně smíšených struktur	2:1	podle typu komponent, x variabilní	tri-	corrensit, hydrobiotit, alietit
			di-	rectorit, tosudit

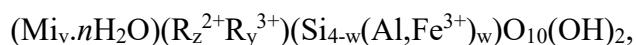
2.2. Vlastnosti jílových minerálů

Jílové minerály jsou tvořeny mikroskopickými částicemi (méně než 2 μm), vyskytují se však v jemnozrnných agregátech. Jsou charakteristické svou plasticitou po smíchání s vodou [1]. Další typické fyzikálně-chemické vlastnosti jsou vysoké hodnoty specifického povrchu, adsorpční kapacity a kationtové výměnné kapacity (CEC), tepelná odolnost, chemická inertnost, biokompatibilita a nízká toxicita [3]. Díky schopnosti kationtové výměny lze jílové minerály snadno modifikovat funkčními ionty nebo molekulami pomocí interkalačního procesu [7]. Interkalace je obecný pojem používaný k popisu vpravování atomů, iontů nebo molekul (hostů) do vrstevnaté struktury hostitele. Výsledný materiál se popisuje jako „interkalovaná struktura“ [8]. Interkalace organických látek do vrstevnatých anorganických jílových minerálů poskytuje vhodný a užitečný způsob přípravy materiálů, které mají vlastnosti jak anorganického hostitele, tak organických hostů [9].

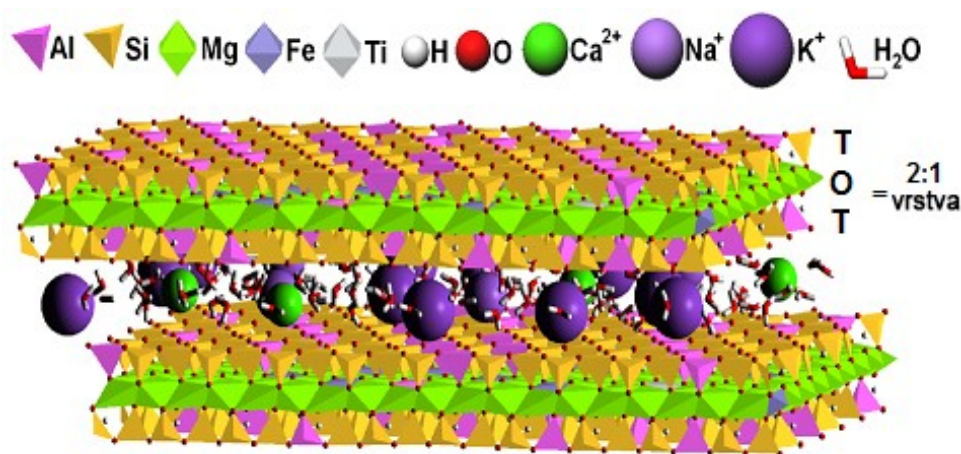
Jílové minerály se tak díky své biokompatibilitě, nízké toxicitě a nízké ceně stávají ideálními nosiči léčiv a antibakteriálních látek. Kapitoly 2.3.1 a 2.4.1 jsou zaměřeny na modifikaci vermikulitu a kaolinitu antibakteriálním chlorhexidinem, jelikož tyto materiály byly použity v praktické části diplomové práce.

2.3. Vermikulit

V přírodě se vermikulity nejčastěji vyskytují jako šupinkové agregáty (někdy také jako dobře vyvinuté tabulkové krystaly). Ze strukturního hlediska jsou tvořeny 2:1 vrstvami, které jsou trioktaedrické a dominantním oktaedrickým kationtem je Mg. Mezivrstevní prostor je obsazen hydratovanými výměnnými kationty, které mají tendenci uspořádávat se do tvaru oktaedrů. Chemické složení vermikulitu lze obecně vyjádřit vzorcem:



kde Mi_v jsou mezivrstevní vyměnitelné kationty, je jimi kompenzován náboj x vrstvy 2:1 ($x = 6 + w - 3y - 2z$; x obvykle leží v intervalu 0,6–0,9). Kationty Mi mohou být jak jednomocné, tak dvoumocné, nejčastěji se vyskytují Mg^{2+} , Ca^{2+} a Na^+ . Původní mezivrstevní kationty lze snadno vyměnit za jiné. R^{2+} a R^{3+} jsou oktaedrické kationty, nejčastěji Mg^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Al^{3+} a Fe^{3+} . V tetraedrech je běžná substituce Al^{3+} za Si^{4+} , kdy se obsah Al pohybuje v intervalu 1,0–1,3 na jednu vzorcovou jednotku [2].



Obrázek 4: Model struktury vermikulitu (Brazílie) [8].

2.3.1. Modifikace vermikulitů

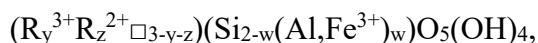
Přírodní vermikulity mají mezivrství obsazené hydratovanými výměnnými kationty (převážně Mg^{2+}). Za modifikované formy považujeme takové vermikulity, jejichž původní struktura byla upravena např. kationtovou výměnou nebo interkalací organickými molekulami. Monoiontová forma je takový vermikulit, jehož mezivrství je obsazeno pouze jedním typem výměnného kationtu. Nejčastěji se připravuje sycením příslušným kationtem z vodného roztoku jeho chloridu, dusičnanu nebo octanu. V závislosti na typu mezivrstevného kationtu a jeho hydratace se také mění mezivrstevná vzdálenost d a rentgenový (RTG) difrakční záznam. Změna je především viditelná na poloze (úhel 2θ) a intenzitě bazální difrakce. Sycením vermikulitů organickými látkami lze dosáhnout toho, že organické molekuly interkalují do mezivrstevních prostor vermikulitu. Interkalace bývá často spojena s expanzí vermikulitu ve směru kolmém na vrstvy. Míra expanze závisí na velikosti organických molekul a na způsobu, jakým jsou v mezivrství uloženy. Interkalací organických molekul lze zlepšit vlastnosti přírodního jílu nebo propůjčit organovermikulitům vlastnosti nové – sorpční nebo antibakteriální účinky [2].

Několik studií se již zabývalo interkalací chlorhexidinu acetátu do vermikulitové matice. Jako výchozí materiál v práci Holešové et al., (2010) byl použit Na-vermikulit. Pro interkalační proces bylo použito různé množství chlorhexidinu (CH) vzhledem ke kationtové výměnné kapacitě vermikulitu (0,2, 1, 2, 3, 4). Pomocí RTG difrakční analýzy, infračervené spektroskopie a termogravimetrické analýzy bylo potvrzeno, že CH byl interkalován do mezivrstevních prostor vermikulitu. Antibakteriální testy ukázaly dobrou antibakteriální aktivitu proti *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* a vzorky s vyšším obsahem CH také proti *Pseudomonas aeruginosa* [10]. V pozdější studii bylo zjištěno, že i při interkalaci přebytkem CH vzhledem k CEC nedojde k úplné interkalaci chlorhexidinu. Antibakteriální

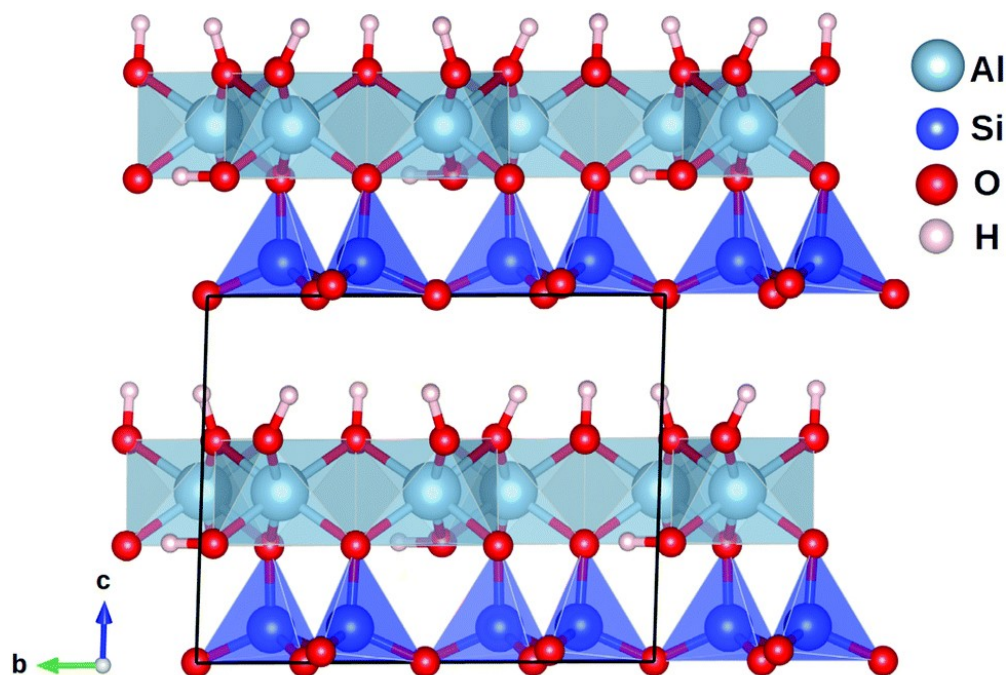
testy ukázaly, že kompozit je také efektivní vůči *Staphylococcus aureus*. Také byly provedeny in vivo testy účinku Mg-Ver na myších. Nebyla pozorována lokální ani systémová reakce, čímž může být vyloučena toxicita vermikulitu na modelovém organismu. Chování vermikulitu v těle zvířete bylo inertní. Studie navrhuje, že vermikulit může být používán jako nosič pro nové typy nanokompozitních biomateriálů s dlouhodobou antibakteriální aktivitou [7]. V další studii bylo sledováno uvolňování CH z vermikulitové matice do vodného roztoku při různém pH (2 a 7) a teplotě (20 °C a 40 °C). Bylo zjištěno, že dochází pouze k zanedbatelnému vymývání (~4%, 9,76% při pH 7 a teplotě 40 °C). Po testech uvolňování CH byly provedeny další testy antibakteriální aktivity, které prokázaly, že vymytí CH nemělo významný vliv na antibakteriální aktivitu [9].

2.4. Kaolinit

Kaolinit patří k dioktaedrickým minerálům skupiny serpentinu-kaolinu. Tato skupina minerálů se vyznačuje širokou variabilitou strukturního uspořádání vrstev 1:1. Vrstvy jsou spojeny systémem vodíkových vazeb mezi rovinou anionů oktaedrické sítě a tetraedrickou sítí (vazba O-H...O). Chemické složení minerálů skupiny serpentinu-kaolinu lze vyjádřit obecným krystalochemickým vzorcem:



kde $w = 2y + z - 3$ a náboj vrstvy $x = 0$. Symbolem R jsou označeny heteroatomy v oktaedrech (nejčastěji Mg^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} a Cr^{3+}). Kaolinit patří k nejvýznamnějším fylosilikátům jak z hlediska rozšíření v přírodě, tak i z hlediska jeho průmyslového využití. V přírodě se vyskytuje jako velmi jemně zrnitý agregát. Chemické složení lze vyjádřit vzorcem $(Al_2\square_1)Si_2O_5(OH)_4$, nemá tedy tetraedrickou substituci za Si^{4+} a za R^{3+} zde vystupuje Al^{3+} . V přírodních vzorcích lze najít jako příměsi malé množství oxidů Fe, Ti, K, Mg a Ca [2].



Obrázek 5: Struktura kaolinitu [11].

2.4.1. Modifikace kaolinitu

Kaolinit může být stejně jako vermikulit modifikován anorganickými ionty i organickými molekulami, které jsou vázány především na povrchu jílového minerálu. Dle požadavků pro následné použití materiálu může být kaolinit modifikován řadou různých látek. Antibakteriální materiál může být připraven pomocí modifikace stříbrnými, měďnými, zinečnatými ionty nebo organickými látkami jako např. cetylpyridinium bromid a chlorhexidin diacetát. Jou & Malek (2016) připravili trojici antibakteriálních materiálů – kaolinit modifikovaný stříbrnými ionty (Ag-Kao), kaolinit modifikovaný chlorhexidin diacetátem (CH-Kao) a Ag-Kao modifikovaný chlorhexidin diacetátem (CH-Ag-Kao). Vzorky byly testovány proti *E. Coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* a *E. faecalis*. Největší účinnost proti *S. aureus* a *E. faecalis* byla pozorována u CH-Ag-Kao, proti *E. Coli* byl nejúčinnější CH-Kao a proti *P. aeruginosa* Ag-Kao (proti tomuto kmeni CH-Kao nebyl účinný vůbec). Lze tedy tvrdit, že spojení dvou antibakteriálních látek jako je Ag a chlorhexidin diacetát významně vylepšuje antibakteriální aktivitu kaolinitu [12]. Holešová et al. (2016) připravovali antimikrobiální nanokompozity, kdy jako nosič pro chlorhexidin dihydrochlorid byl použit kaolinit a kaolinit exfoliovaný dimethyl sulfoxidem (DMSO). Výsledky ukázaly, že ve všech případech byl chlorhexidin ukotven na povrchu jílu. Antibakteriální vlastnosti nebyly ovlivněny DMSO a nanokompozity měly dobrou antibakteriální účinnost proti *S. aureus*, *E. Coli* a *Candida albicans*. Materiál by mohl být využit například pro lokální ošetření v ústní dutině [13].

3. Elektrostatické zvlákňování

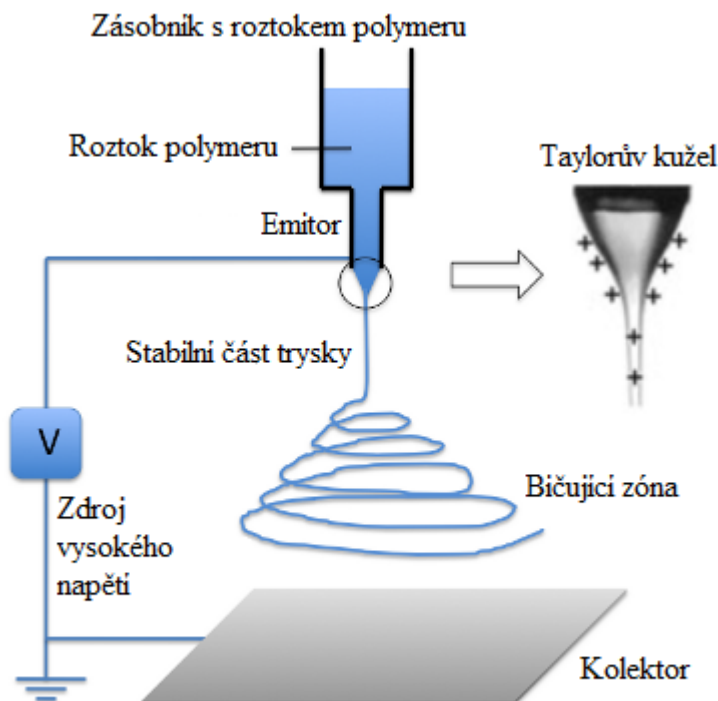
Elektrostatické zvlákňování (ES) je elektredepoziční metoda sloužící k výrobě nanovláken. Technologie ES se stále rozvíjí a získává si zájem nejen vědecké společnosti, ale také průmyslu a je považována za podstatnou vědeckou a komerční oblast s globálními ekonomickými benefity. Nanovlákná připravená touto metodou se vyznačují vysokou hodnotou specifického povrchu a velkým množstvím pórů uvnitř vláken i na povrchu. Tvoří tak prostor pro nalezení průlomových aplikací v oblastech jako bioinženýrství, biomedicína, ochrana životního prostředí, senzory, katalýza nebo elektronika. Zvlákňovány mohou být různé druhy materiálů, od přírodních a syntetických polymerů (dosud bylo zvlákňováno přibližně 100 druhů polymerů) ke kompozitům (složených z organických a anorganických složek). [14].

Základem zvlákňování je roztok polymerů, který se přivádí na elektrodu (emitor), která je pod vysokým napětím (desítky tisíc voltů). Působením silného elektrického pole vytváří polymerní roztok tzv. Taylorův kužel, z jehož špičky „vystřeluje“ tenké vlákno, které letí směrem k opačné elektrodě (kolektor), která je uzemněna. V průběhu vlákňování (na cestě od emitoru ke kolektoru) se vypařuje rozpouštědlo, vlákno tuhne a na konec vytváří netkanou textilií s unikátními vlastnostmi. Rozlišujeme elektrostatické zvlákňování s kapilárou/jehlou (capillary/needle electrospinning – CES) a bez kapiláry/jehly (needleless electrospinning – NLES). V druhém případě vznikají Taylorovy kužely na povrchu kapaliny. Zvlákňovací proces ovlivňuje mnoho proměnných, jako jsou vlastnosti roztoku (složení, viskozita, povrchové napětí), okolní podmínky (tlak, teplota, vlhkost), vzdálenost kolektoru, povaha a síla použitého elektrického pole (viz kapitola 3.2.) [15].

3.1. Fyzikální princip elektrostatického zvlákňování

Nejjednodušší sestava pro elektrostatické zvlákňování sestává ze čtyř hlavních komponent: zásobník s roztokem polymeru, emitor s dutým otvorem (kovová jehla), zdroj vysokého napětí a kovový kolektor (může mít různé tvary). Emitor je připojen na zdroj vysokého napětí (až 100 kV). Na vrcholu jehly se vytvoří kapička polymerního roztoku, do které začne přes kovovou jehlu proudit elektrický náboj. Přiváděný polymerní roztok přijímá stejný elektrický náboj jako emitor a na povrchu kapičky se tvoří indukovaný náboj, v jehož důsledku v roztoku vzniká nestabilita. Repulze mezi nábojem na povrchu a nábojem v polymerním roztoku poté působí proti povrchovému napětí a kapička se deformuje ve směru pole do kónického tvaru, tzv. Taylorova kužele. Když elektrické síly překonají

povrchové napětí roztoku, tak z vrcholu Taylorova kužele začne vylétat tenké vlákno (tryska). To je vlivem gradientu elektrického pole urychlováno a v oblasti bičování se natahuje a zužuje, zároveň dochází k odpařování rozpouštědla. Nakonec je zachyceno na kolektoru umístěném v optimální vzdálenosti [16; 14].



Obrázek 6: Základní schéma elektrospinningu [17].

3.2. Faktory ovlivňující elektrostatické zvlákňování

Proces elektrostatického zvlákňování ovlivňuje mnoho faktorů. Tyto faktory lze rozdělit do tří skupin: parametry elektrostatického zvlákňování, parametry zvlákňovaného roztoku a parametry prostředí. První skupina zahrnuje velikost přikládaného napětí, vzdálenost mezi emitorem a kolektorem, objemový průtok a v případě jehlového emitoru průměr jehly. Mezi parametry roztoku se řadí typ rozpouštědla, koncentrace polymerního roztoku, jeho viskozita, vodivost a povrchové napětí. Do poslední skupiny lze zařadit relativní vlhkost a teplotu. Všechny tyto parametry přímo ovlivňují strukturu tvořených nanovláken [14].

3.2.1. Přikládané napětí

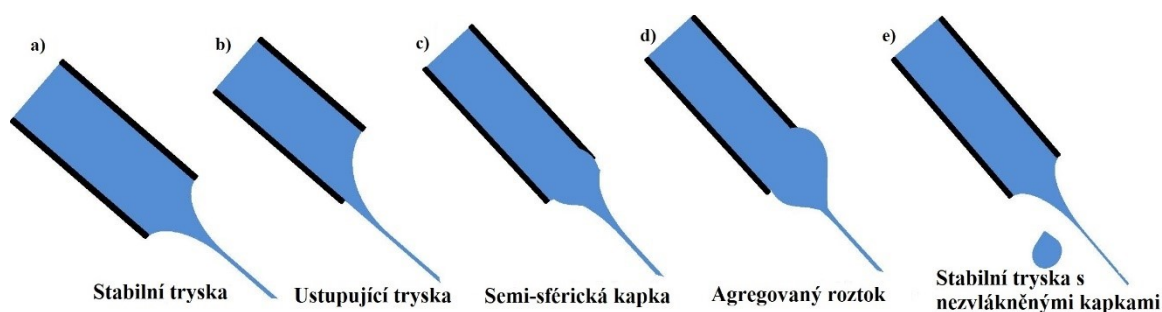
Při průtoku proudu ze zdroje do roztoku polymeru se sférická kapka na vrcholu jehly deformuje do Taylorova kužele a při tzv. kritickém napětí se začnou tvořit nanovlákna.

Hodnota kritického napětí se liší pro různé polymery. Při zvyšování přikládaného napětí dochází ke tvorbě nanovláken s menším průměrem, což je přičítáno natahování polymerního roztoku kvůli repulzi nábojů v trysce. Zvýšení napětí nad hodnotu kritického napětí zapříčiní tvorbu vláken s větším průměrem, kapek nebo korálkových nanovláken. Je to přičítáno zmenšení Taylorova kuželu a zvýšení rychlosti trysky při stejném průtoku polymeru [14].

3.2.2. Objemový průtok

Objemový průtok polymerního roztoku emitorem (jehlou) také ovlivňuje morfologii nanovláken. Dlouhá hladká nanovlákna mohou být připravena při kritickém objemovém průtoku pro daný polymerní roztok. Zvýšení průtoku nad tuto kritickou hodnotu může vést k vytvoření korálek na vláknech. V práci Megelski et al. (2002) po překročení kritické hodnoty objemového průtoku při zvlákňování polystyrenu byla pozorována tvorba korálek a změny v morfologii – větší velikost pórů a větší průměr nanovláken [18]. V některých případech se také mohou vytvářet vlákna ve tvaru stuhy (zploštělá) a mohou se objevit nezvlákněné kapky. Vytváření korálek, zploštělých a širších vláken při vysokém objemovém průtoku je přičítáno nedokonalému odpařování rozpouštědla a malému natahování vlákna mezi jehlou a kolektorem. Přítomnost nezvlákněných kapek je zase přičítána vlivu gravitačních sil [14].

Protože zvyšování a snižování objemového průtoku ovlivňuje formování nanovláken a jejich průměr, je potřeba udržovat minimální průtok, který zajistí rovnováhu mezi spotřebovaným polymerním roztokem a nahrazováním tohoto roztoku novým. Udržováním rovnováhy lze dosáhnout vytvoření stabilní trysky (cone jet) a někdy ustupující trysky (receded jet). Ustupující trysky nejsou stabilní a během zvlákňovacího procesu jsou nepřetržitě nahrazovány stabilní tryskou. Díky tomuto jevu se tvoří nanovlákna s velkým rozsahem průměrů [14].



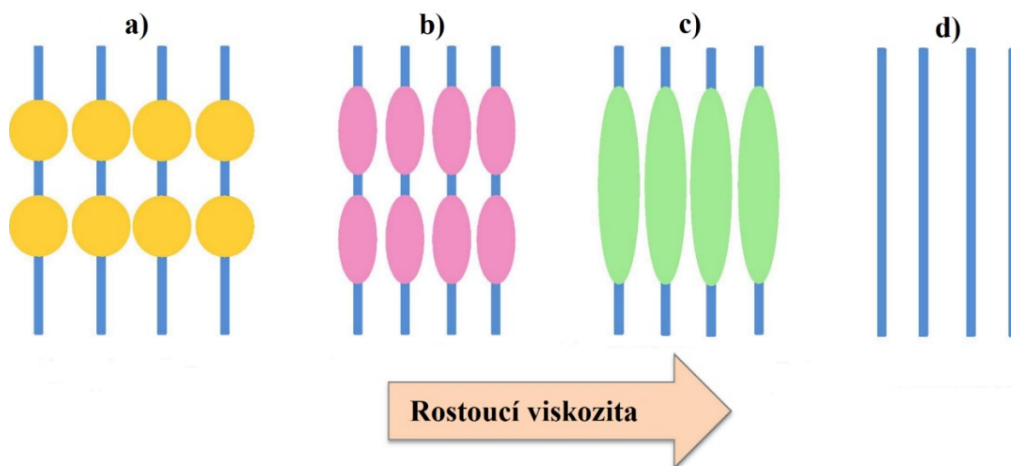
Obrázek 7: Tvorba různých typů trysek se zvyšujícím se objemovým průtokem [14].

3.2.3. *Vzdálenost jehly a kolektoru, průměr jehly*

Vzdálenost mezi emitorem a kolektorem hraje zásadní roli v otázkách morfologie nanovláken a podobně jako přikládání napětí, viskozita a objemový průtok také závisí na druhu zvláknovaného polymeru. Vzdálenost kolektoru ovlivňuje sílu elektrostatického pole a jeho rozložení, a tedy i depoziční čas, míru odpaření rozpouštědla a velikost nestabilní oblasti bičování, proto se musí určit a udržovat kritická vzdálenost mezi emitorem a kolektorem, aby mohly být připraveny hladká a jednotná vlákna. Pokud je vzdálenost příliš malá, tak dochází k vytváření vláken s velkým průměrem a mnoha defekty. Se zvyšující se vzdáleností průměr vláken klesá. Byly také zaznamenány případy, kdy vzdálenost emitoru a kolektoru neměla na morfologii vláken vliv [14].

3.2.4. *Koncentrace polymeru a viskozita roztoku*

Proces elektrostatického zvláknování je především závislý na uniaxiálním natahování nabitě trysky, které je významně ovlivněno změnami koncentrace polymerního roztoku. Pokud je koncentrace roztoku příliš nízká, tak se mohou působením elektrostatického pole a povrchového napětí zapletené polymerní řetězce před depozicí vlákna na kolektor rozlámat na fragmenty. Tyto fragmenty jsou poté příčinou tvorby korálků a korálových nanovláken. Zvyšováním koncentrace polymeru v roztoku roste viskozita a polymerní řetězce se mezi sebou více proplétají. Tyto spletenice překonají povrchové napětí, a nakonec dojde k tvorbě hladkých vláken. Avšak překročení určité kritické hodnoty koncentrace polymeru zpomaluje průtok roztoku hrotem jehly (roztok polymeru může na špičce uschnout a ucpat ji), což může opět vést k tvorbě defektů nebo korálků. Se změnou viskozity se mění tvar korálků, při nižší viskozitě jsou korálky kulaté a s rostoucí viskozitou se protahují až na hladká vlákna (Obr. 8) [14].



Obrázek 8: Změna tvaru nanovláken s rostoucí viskozitou roztoku polymeru [14].

3.2.5. Vodivost roztoku

Vodivost roztoku ovlivňuje jak formaci Taylorova kužele, tak průměr nanovláken. Při použití roztoku s nízkou vodivostí nebude mít kapka žádný povrchový náboj, nedojde k vytvoření Taylorova kužele, a tedy ani ke zvlákňovacímu procesu. Při zvýšení vodivosti roztoku na kritickou hodnotu vzroste povrchový náboj kapky, dojde k vytvoření Taylorova kužele a při dalším zvyšování vodivosti roztoku (například přidáním NaCl) bude průměr vláken vlivem elektrického pole klesat. Překročení kritické hodnoty vodivosti roztoku ovšem opět zabrání vytvoření Taylorova kužele, protože se vzrůstající vodivostí roztoku značně klesá tangenciální složka elektrického pole, která vyvolává elektrostatickou sílu řídící tvorbu Taylorova kužele. Protahování a ztenčování stabilní části trysky ovlivňují jak Coulombovské, tak elektrostatické síly. Délka stabilní trysky a chování polymeru v oblasti bičování mají významný vliv na konečný průměr nanovláken. Nanoměřítko bývá dosaženo díky natahování vláken vlivem povrchových nábojů v oblasti bičování [14; 19].

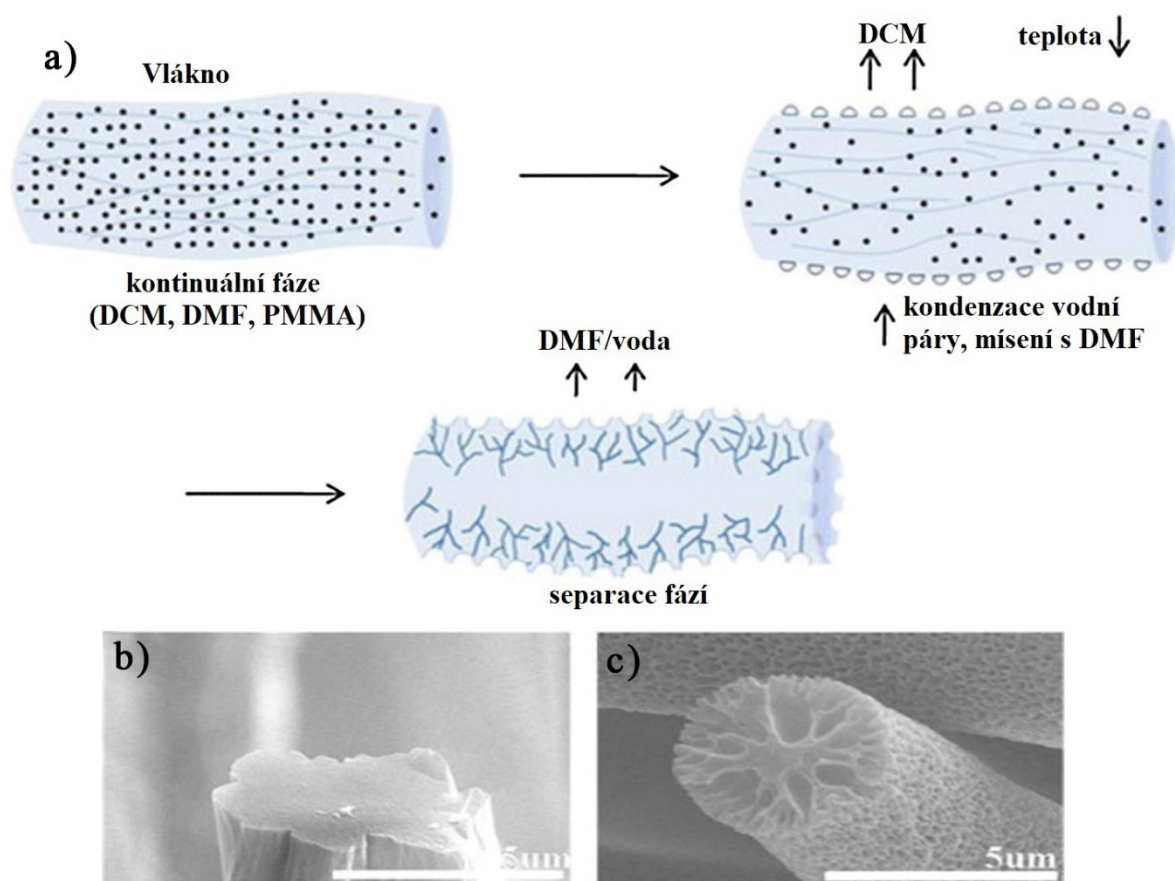
3.2.6. Rozpouštědla

Výběr vhodného rozpouštědla je jeden z klíčových faktorů pro přípravu hladkých nanovláken. Při výběru je důležité, aby byl polymer v daném rozpouštědle dokonale rozpustný a aby mělo rozpouštědlo vhodný bod varu. Těkavá rozpouštědla se během formování nanovláken snadno vypařují, ale velmi těkavá rozpouštědla nejsou vhodná, protože způsobují zasychání roztoku na hrotu jehly. Jehla se může ucpat a přerušit zvlákňovací proces. Naopak málo těkavá rozpouštědla se nevypaří úplně a na kolektoru se usadí nanovlákná stále obsahující rozpouštědlo, což může způsobit perličkový efekt. Kombinací rozpouštědel lze dosáhnout tvorby vysoce pórovitých nanovláken. Pokud se zvlákňovaný roztok bude skládat z polymeru a dvou rozpouštědel (kdy v jednom z nich není polymer rozpustný), tak rozdílná míra vypařování obou rozpouštědel povede k separaci fází a tvorbě pórovitých nanovláken [14; 20].

3.2.7. Relativní vlhkost a teplota

Stejně jako výše zmíněné faktory i okolní podmínky ovlivňují průměr a morfologii nanovláken. V závislosti na chemické podstatě polymeru lze do jisté míry změnou vlhkosti kontrolovat průměr nanovláken. Při zvlákňování polyvinylalkoholu (PVA) a polyetylenoxidu (PEO) bylo pozorováno, že průměr nanovláken klesl z 667 nm na 161 nm (PVA) a z 252 nm na 75 nm (PEO) při zvýšení vlhkosti ze 4 % na 60 %. Další navýšení vlhkosti již vedlo ke perličkovému efektu [21]. Okolní vlhkost má také vliv na tvorbu pórů

při použití systému dvou rozpouštědel např. dichlormetanu (DCM) a dimethylformamidu (DMF). Póry vznikají kvůli rozdílné míře vypařování obou rozpouštědel. Těkavější rozpouštědlo (DCM) se začne vypařovat dříve než méně těkavé rozpouštědlo (DMF). Tento rozdíl v rychlosti vypařování způsobuje ochlazení a dochází ke kondenzaci vodní páry do kapiček, které se usazují na vláknech. Voda je mísitelná s DMF a usazuje se na povrchu i uvnitř vláken. Po odpaření obou rozpouštědel a vody zůstanou vlákna pórovitá (Obr. 9). Vlivem nárůstu teploty dochází ke zvýšení míry vypařování rozpouštědla a snížení viskozity roztoku. Oba jevy vedou ke zmenšení průměru nanovláken [14; 22].



Obrázek 9: a) schéma tvorby pórovitých nanovláken, b) průřez klasickým nanovláknem, c) průřez pórovitým nanovláknem [14].

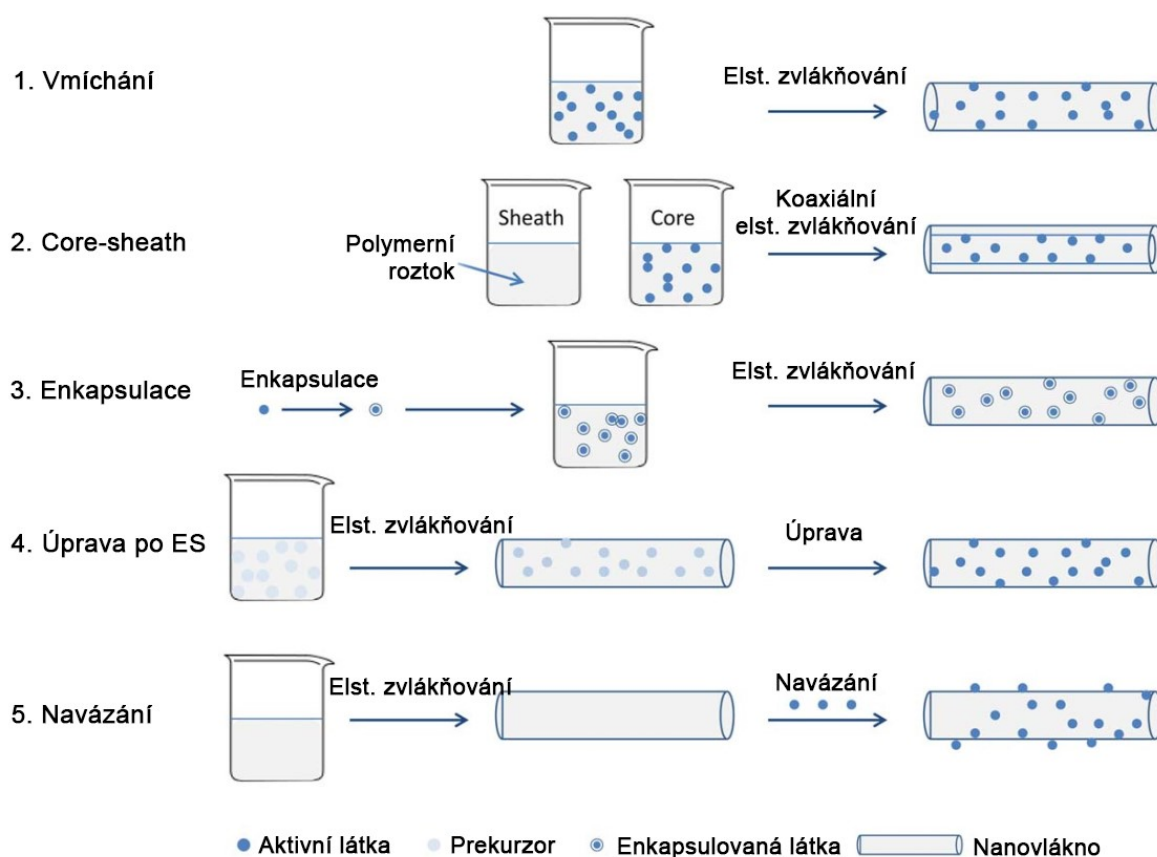
4. Inkorporace aditiv do nanovláknenných vrstev

Jak již bylo zmíněno, nanovláknena připravená elektrostatickým zvlákňováním mohou být použita v širokém spektru aplikací, jako jsou senzory, tkáňové inženýrství, krytí ran, filtrace, palivové články, kondenzátory a další. Tyto aplikace nicméně vyžadují důmyslné ladění chemického složení, hydrofobicity nebo pórovitosti povrchu nanovláken. Inkorporace aditiv (např. léčiv, antimikrobiálních složek atd.) do nanovláken je ekonomický, jednoduchý a efektivní způsob, jak vlastnosti nanovláken upravit, nebo nanovláknenným vrstvám dodat vlastnosti nové. Této možnosti je hojně využíváno v mnohých odvětvích, medicínu a farmacii nevyjímaje [23].

4.1. Antibakteriální nanovláknena

Elektrostatické zvlákňování poskytuje možnost jak enkapsulovat do nanovláken antibakteriální látky a léčiva. Tyto nanovláknenné vrstvy mohou být využity ve tkáňovém inženýrství, pro hojení ran nebo pro drug delivery systémy. Lokální podávání léků může snížit potřebnou dávku léku, což vede k menší absorpci léčiv a redukci nežádoucích vedlejších účinků [24]. Antibakteriální nanovláknena lze připravit několika způsoby (Obr. 10):

- vmícháním aktivní látky do polymerního roztoku před elektrostatickým zvlákňováním,
- uzavřením aktivní látky v jádru core-sheath (core-shell) nanovláken pomocí koaxiálního ES,
- enkapsulace aktivní látky v nanostrukturách a následná disperze ve zvlákňovaném roztoku,
- úprava vláken po ES tak, aby se prekurzor přeměnil na aktivní formu,
- navázání aktivní látky na povrch nanovláken.



Obrázek 10: Možné způsoby přípravy antibakteriálních nanovláken [25].

V prvním případě je aktivní látka rozpuštěna nebo dispergována v polymerním roztoku před ES. Jednou z možností přípravy roztoku pro zvlákňování je rozpuštění polymeru ve vhodném rozpouštědle (voda, DMF, chloroform, methanol atp.), následné rozpuštění antibakteriální látky ve stejném nebo jiném vhodném rozpouštědle a smíchání obou roztoků za stálého míchání tak, aby byl vytvořen homogenní roztok. Aby došlo k úspěšné enkapsulaci aktivní látky v nanovlákněch, je třeba zvážit fyzikálně-chemické vlastnosti polymerů i jejich interakci s molekulami aktivních látek, jelikož tyto faktory významně ovlivňují distribuci aktivní látky ve vláknech i kinetiku uvolňování. Pokud není aktivní látka ve zvlákňovaném roztoku rozpuštěna, může dojít k migraci molekul k povrchu vláken, což vede k nárazovému uvolňování (burst efekt). Kvůli změně vlastností zvlákňovaného roztoku jako jsou viskozita, povrchové napětí nebo vodivost, může přídavek aktivních látek ovlivňovat zvláknitelnost roztoku a morfologii nanovláken. Tato metoda je relativně jednoduchá a mnohostranná, lze tak připravit nanovláknna s širokým spektrem koncentrací aktivní látky (1–30 %) z prakticky jakýchkoliv polymerů, jejichž metoda zvlákňování je zvládnuta. Nevýhodou je, že dochází často právě k rychlému uvolňování aktivních látek z nanovláken. Tento profil uvolňování není žádaný pro aplikace spoléhající se na dlouhodobou antibakteriální aktivitu nanovláknenných vrstev [25; 24].

Pro dosažení pozvolného uvolňování antibakteriálních látek z nanovláken byly zavedeny jiné metody přípravy kompozitních nanovláken. Jednou z možností je koaxiální elektrostatické zvlákňování, kdy vnější roztok (sheath/shell) obsahuje polymer a vnitřní roztok (core) obsahuje aktivní látku. Jsou tak vytvořena nanovlákná, u kterých je aktivní látka zapouzdřena v polymerním plášti [25].

Dalším přístupem k dosažení pozvolného uvolňování je adsorpce nebo enkapsulace aktivní látky do vhodné nanostruktury a následná disperze tohoto kompozitu v polymerním roztoku. Vhodným nosičem mohou být např. jílové minerály, jelikož jejich mezivrstvi lze snadno modifikovat interkalací, případně aktivní látka může být ukotvena na povrchu jílové matrice. Jsou dostupné, levné a v neposlední řadě mají velmi nízkou nebo nulovou toxicitu. Aktuální poznatky v této oblasti jsou shrnuty v kapitole 4.2.1. Nevýhodou tohoto přístupu je menší množství aktivní látky v nanovlákněch oproti přímému vmíchání aktivních látek do polymerního roztoku [25].

4.2. Nanovlákná modifikovaná jílovými minerály

Přidáním jílového minerálu do zvlákňovaného polymerního roztoku lze vylepšit vlastnosti připravovaných nanovláknenných vrstev nebo přidat vlastnosti nové. Nejpoužívanějším jílovým minerálem je montmorillonit (MMT), který je přidáván k široké škále polymerních roztoků (polyvinylalkohol, polystyren, polyakrylonitril atd.). Modifikované nanovláknenné struktury mohou být použity v biomedicíně, filtraci, sorpci nebo pro ochranné oblečení.

Mnoho studií se zabývá vlivem přídatku jílových minerálů na morfologii a vlastnosti výsledných nanovláken. Park et al. (2009) použili polymery PVA a chitosan-oligosacharid (COS) v různých poměrech, jako plnivo použili MMT v koncentraci 1, 3, 5 a 10 hm. %. Poměr PVA/COS a množství přidaného MMT ovlivňovalo zvláknitelnost, morfologii nanovláken a jejich mechanické i tepelné vlastnosti – nanovlákná měla lepší pevnost v tahu a lepší tepelnou stabilitu. Většina částic MMT byla exfoliována a rovnoměrně distribuována ve vláknech [26]. Přidáním Na-MMT do roztoku polyakrylonitrilu (PAN) v koncentracích 2, 3 a 5 hm. % byla také zlepšena tepelná stabilita polymeru a byl zkoumán vliv koncentrace Na-MMT na průměr vláken. PAN vlákna měla průměr 600–900 nm, v závislosti na použitém napětí. Po přidání jílu se průměr vláken snížil, ale s rostoucím množstvím jílu se opět zvětšoval, tento jev byl pozorován při všech napětích. Na-MMT má nenulový povrchový náboj a jeho přidáním do roztoku polymeru se zvyšuje vodivost disperze, v jejímž důsledku

dochází k tvorbě tenčích nanovláken. Růst průměru vláken s koncentrací plniva byl přisouzen vlivu jak velikosti, tak koncentrace částic Na-MMT. Jílové částice omezují schopnost natahování vláken před depozicí na kolektoru, což ústí v tvorbu širších vláken. Na záznamech rentgenové difrakce bylo pozorováno, že mezirovinná vzdálenost MMT se zvýšila – jíl byl interkalován PAN, vodou nebo rozpouštědlem. S rostoucím napětím rostlo uspořádání vrstev. Množství MMT ani velikost napětí neovlivnilo míru interkalace. Bylo zjištěno, že mezivrsteví je i po zvláknění stále přístupné, proto má tento materiál potenciál pro aplikace v oblasti ochrany přírody, jako je úprava odpadní vody a zachycování organických polutantů [23]. Přidáním malého množství MMT (do 5 hm. %) do roztoku acetátu celulózy (CA) lze získat uniformní vlákna s průměrem 150–350 nm, ale při překročení koncentrace 7 hm. % došlo ke skokovému nárůstu vodivosti suspenze a připravená nanovlákna byla tenčí, nebyla uniformní a došlo k formaci korálků. Do 3 hm. % byl MMT exfoliován a dobře dispergován v nanovlákních, při koncentraci 5 hm. % a vyšší došlo k interkalaci CA do mezivrsteví. Plnivo zlepšilo mechanické vlastnosti nanovláken (sílu v tahu) [27]. Isarankura Na Ayutthaya et al. (2016) použili keratin extrahovaný z kuřecích per s polymléčnou kyselinou (PLA, 50:50 w/w) s přísadkou MMT v koncentraci 1–3 hm. %. Po přidání jílu měly suspenze vyšší viskozitu a nižší vodivost – funkční skupiny keratinu (COOH a OH) interagovaly s Na^+ v mezivrsteví MMT a elektrony na povrchu jílu pravděpodobně interagovaly s aminovými skupinami keratinu. Na nanovlákních bez aditiva se tvořily korálky v důsledku fázové separace keratinu a PLA (rozdílná hydrofobicita), avšak po přidání MMT byly vlákna hladká a spojitá, jíl se v tomto případě choval jako most mezi dvěma látkami. Rentgenové difrakční záznamy ukázaly, že MMT byl interkalován keratinem. Přídavek MMT také způsobil zvýšení průměru vláken a účinnější filtraci methylenové modři [28].

Kompozity jíl/nanovlákna by mohly být zajímavým materiálem pro aplikace membránové destilace, například v oblasti odsolování mořské vody. V práci Prince et al. (2012) byl použit polyvinylidenfluorid a modifikovaný MMT (Cloisite) jako plnivo k vytvoření nanovlákních membrán pomocí ES. Po přidání MMT měly membrány lepší tepelnou stabilitu a povrchové vlastnosti – docházelo ke zvyšování kontaktního úhlu s rostoucí koncentrací jílu ve vrstvě. Membrány po přidání MMT byly tedy více hydrofobní a vzorky s větším obsahem MMT byly schopny hydrofobicitu déle udržet, také se snížila míra smáčení pórů. Nanokompozitní membrány byly schopny odstranit až 99 % soli z mořské vody. Vědci by další úpravou membrán (pomocí změny podmínek při

elektrostatickém zvlákňování, tloušťkou nanovláknenné vrstvy) mohli zvýšit průtok, přitom zachovat vynikající filtrační vlastnosti a nízké smáčení pórů [29].

Nanokompozitní nanovláknenné membrány mají samozřejmě také velký potenciál ve využití na poli antimikrobiálních aplikací a v medicíně – antioxidační produkty v potravinářském a farmaceutickém průmyslu, hojení ran, tkáňové inženýrství nebo podávání léků. Po inkorporaci MMT do PVA (1 hm. % vzhledem k váze celé suspenze) byly pomocí ES připraveny uniformní vlákna s průměrem 150–200 nm, kdy MMT byl ve vláknech dobře dispergován a exfoliován. Byla pozorována interakce přes vodíkové vazby mezi PVA a MMT. DPPH metodou byla prokázána dobrá antioxidační aktivita a materiál může být použit v potravinářském a farmaceutickém průmyslu jako potenciální antioxidační produkt [30]. V práci Heydary et al. (2015) byla použita směs PVA/tragant s přídavkem kaolinu (1 a 3 hm. % vzhledem k váze PVA/tragant), vlákna byla morfologicky podobná, hladká a bez korálků, průměr se snižoval se zvyšujícím se obsahem jílu a držel se pod 30 nm. Přídavek kaolinu zlepšil chemickou stabilitu a mechanické vlastnosti. Bylo navrženo použít tuto nanovláknennou vrstvu pro krytí ran, protože může ochránit povrch rány před infekcí a dehydratací [31].

4.2.1. Nanovláknna modifikovaná jílovými minerály jako nosiči antibakteriálních látek

Jílové minerály jsou vhodným nosičem pro antibakteriální látky a léčiva, protože mohou být pomocí interkalace snadno modifikovány. Jílové minerály jsou také snadno dostupné, levné a mají velmi nízkou nebo nulovou toxicitu [7]. Inkorporace kompozitů antibakteriální látka/jílový minerál do polymerních nanovláken může pozitivně ovlivnit vlastnosti těchto nanovláknenných vrstev. Další výhoda tkví ve změně profilu uvolňování aktivních látek z nárazového uvolnění (burst efekt) na pozvolné uvolňování po delší časový úsek [25].

Saha et al. (2013) připravili polyuretanové (PU) vrstvy s přídavkem 1 a 5 hm. % CH nebo MMT interkalovaného CH (CH/MTT) pro topické ošetření ran. Elektrostatickým zvlákňováním byla připravena hladká nanovláknna s kulatým průřezem, na jejichž povrchu nebyly viditelné krystaly CH – léčivo bylo inkorporováno ve vláknech. Po přidání CH a CH/MMT se snížil průměr vláken a také průchod par, což může být užitečné pro udržení vlhkosti na ráně a k prevenci dehydratace. Vzorčky měly dobrou antibakteriální aktivitu proti *E. coli* a *S. aureus*, vrstvy CH/PU dosahovaly větší velikosti inhibiční zóny oproti vrstvám CH/MMT/PU. U nanovláken s čistým CH docházelo k burst efektu, zatímco chlorhexidin se

z CH/MMT/PU vláken uvolňoval postupně. První zmiňovaná kinetika je žádaná pro léčbu infekčních onemocnění, kde je nutný okamžitý zásah, ale pro krytí ran je výhodné postupné uvolňování s dlouhodobou aktivitou [32]. Pro regeneraci kostí, tkáňové inženýrství nebo pro léčení chronických ran byly navrženy nanovlákná z polykaprolaktonu (PCL) a želatiny, s přídavkem halloysitu s metronidazolem. Halloysit patří do skupiny serpentinu-kaolinu, krystaly mají tvar trubiček s průměrem 50–60 nm a o délce 600–700 nm. Do suspenze pro ES bylo přidáno 1, 2, 5, 10 a 20 hm. % halloysitu (vzhledem k hmotnosti polymeru) a na rotujícím kolektoru byla připravena hladká nanovlákná bez korálků s průměrem 300–500 nm. Halloysit byl orientován podél vláken, ve kterých byl homogenně distribuován. Přidání halloysitu zlepšilo tepelnou stabilitu a pevnost vláken v tahu, u které byla pozorována anizotropie (směry podél rotace kolektoru a kolmo na směr rotace kolektoru). Díky dopování léčiva do halloysitu i vláken bylo dosaženo pozvolného uvolňování po dobu tří týdnů. Průměr pórů je menší než průměr fibroblastů, proto může být nanovláknenná vrstva také použita jako membrána zabraňující pooperačním srůstům [33]. Stejná kombinace polymerů (PCL a želatina) byla použita také s plnivem hydroxyapatitem (HA) a doxycyklinem (Dox), přídavek plniva neměl vliv na průměr nanovláken, které byly tvořeny PCL a želatinovou fází, částice byly pozorovány především v želatinové fázi. Kombinace HA a Dox vykazovala lepší cytotoxický efekt u rakovinných buněk Caco-2, 4T1 a 431 (in vitro) a lepší inhibici *S. aureus* a *Porphyromonas gingivalis* než HA a Dox samostatně. Tyto nanovláknenné vrstvy jsou atraktivní volbou pro biomedicínské aplikace, jako jsou postoperační chemoterapeutická léčba nebo periodontální regenerace [34].

5. Praktická část

5.1. Chemikálie a materiály

Polymery polyuretan (PU, BASF Polyurethanes GmbH) a polykaprolakton (PCL, Sigma Aldrich), rozpouštědla *N,N*-dimethylformamid (DMF, Lach-ner), tetrahydrofuran (THF, Honeywell) a chloroform (Sigma Aldrich) byly poskytnuty Contipro a.s. Dále byly použity jílové minerály vermikulit Brazílie 407/08 (Ver), kaolinit Kaznějov 762/14 (Kao), oba s velikostí částic pod 40 µm a tyto jílové minerály modifikované chlorhexidin acetátem (CH) – kompozity označené jako chlorhexidin acetát/vermikulit (CH/Ver) a chlorhexidin acetát/kaolinit (CH/Kao) [10; 13].

5.2. Příprava roztoků

Pro základní roztok polyuretanu (10 hm. %) v DMF a THF (1:1) bylo napipetováno 114,4 ml DMF a 121,48 ml THF. Za stálého míchání bylo vsypáno 24 g PU a mícháno do úplného rozpuštění. Pro základní roztok polykaprolaktonu (10 hm. %) v DMF a chloroformu (2:8) bylo napipetováno 45,76 ml DMF a 116,76 ml chloroformu. Za stálého míchání bylo přidáno 24 g PCL a mícháno do úplného rozpuštění.

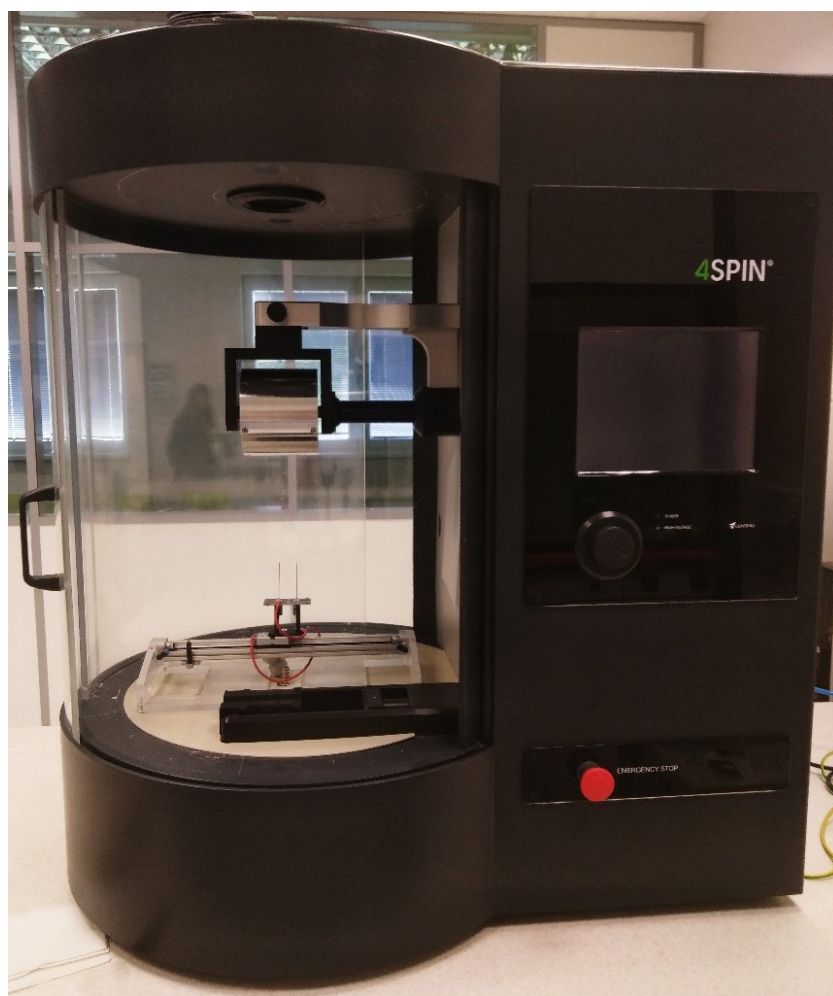
Pro elektrostatické zvlákňování byly připraveny suspenze s 2, 5 a 8 hm. % jílových minerálů (vzhledem k celkové hmotnosti roztoku). Jako vstupní materiály byly použity základní roztoky polymerů PCL a PU, čisté jílové minerály Ver, Kao a jílové minerály modifikované CH – CH/Ver a CH/Kao. Bylo naváženo dané množství jílového minerálu a roztoku polymeru (Tab. 2), mírně promícháno v ruce a vzniklá suspenze byla umístěna na stojan do chladicí směsi (voda, led), kde byla po dobu pěti minut homogenizována homogenizérem IKA® T25 digital Ultra Turrax (5600 rpm, 15 s zapnuto, 5 s pauza). Tato suspenze byla ihned vlákněna. Jednotlivé suspenze a vzorky byly obecně označeny jako *hm.%Jil_polymer*, tedy například označení 2Ver_PCL odkazuje na 2 hm.% vermikulitu v PCL a 8CH/Kao_PU na 8 hm.% chlorhexidin/kaolinitu v polyuretanu.

Tab. 2: Navážky pro přípravu suspenzí pro zvlákňování.

Koncentrace jílového minerálu [hm. %]	Jílový minerál [g]	Roztok polymeru [g]
2	0,4	20
5	1,0	20
8	1,6	20

5.3. Elektrostatické zvlákňování

Pro zvlákňování byl použit přístroj 4SPIN LAB. Jako emitore byly použity dvě pohybující se jehly a jako kolektor rotační válec o šířce 10 cm, na kterém byl substrát – hliníková fólie. Kolektor rotoval rychlostí 1000 rpm. Vzdálenost mezi emitorem a kolektorem byla nastavena na 18 cm. Experimentální sestava je na Obr. 11. Každý vzorek se vláknil 120 min, přičemž po 60 minutách byl vlákněný roztok, vzhledem k usedání částic ve stříkačce, vyměněn za čerstvě homogenizovaný. Další parametry zvlákňování jsou shrnuty v Tab. 3.



Obrázek 11: 4SPIN LAB se dvěma pohyblivými jehlovými emitory a rotujícím kolektorem.

Tab. 3: Parametry elektrostatického zvlákňování.

Označení vzorku	Průměr jehly	Napětí [kV]	Dávkování [μL/min]	Vzdušná vlhkost [%]	Teplota [°C]
PU	G21	25	20	33	26
PCL	G21	20	20	30	27
2Ver_PU	G21	25	20	36	25
5Ver_PU	G21	25	20	36	27
8Ver_PU	G26	25	20	42	24
2Ver_PCL	G21	20	20	38	24
5Ver_PCL	G21	20	20	40	23
8Ver_PCL	G26	20	20	39	24
2Kao_PU	G21	25	20	43	25
5Kao_PU	G21	25	20	43	25
8Kao_PU	G26	25	20	52	26
2Kao_PCL	G21	20	20	30	25
5Kao_PCL	G21	20	20	25	27
8Kao_PCL	G26	20	20	25	25
2CH/Ver_PU	G21	25	20	42	25
5CH/Ver_PU	G21	25	20	43	26
8CH/Ver_PU	G26	25	20	41	24
2CH/Ver_PCL	G21	20	20	30	28
5CH/Ver_PCL	G21	20	20	33	26
8CH/Ver_PCL	G26, G21	20	30	35	25
2CH/Kao_PU	G21	20	20	30	24
5CH/Kao_PU	G21	20	20	37	24
8CH/Kao_PU	G26	20	30	23	24
2CH/Kao_PCL	G21	25	30	35	24
5CH/Kao_PCL	G21	25	30	30	25
8CH/Kao_PCL	G26	25	30	27	25

5.4. Metody charakterizace

5.4.1. Digitální mikroskopie

Pro optické potvrzení přítomnosti vermikulitu a kaolinitu v nanovláknenných vrstvách byla použita digitální mikroskopie. Vzorky nebylo nutno upravovat, nanovláknenná vrstva byla odstraněna ze substrátu a položena na podložní sklíčko. Byl použit digitální mikroskop VHX Multi Scan Keyence s objektivem Keyence ZS-260 (zvětšení 200x–2000x). Snímky byly pořízeny v transmisním režimu při zvětšení 200x, 500x a 1000x. Ze snímků byla vyhodnocena velikost částic pomocí programu ImageJ 1.48 (30 částic).

5.4.2. Elektronová mikroskopie a EDX mapování

Morfologie nanovláken byla charakterizována pomocí skenovací elektronové mikroskopie. Pro zajištění vodivosti, resp. pro odvod náboje, byly vzorky před analýzou naprášeny tenkou vrstvou chromu (≈ 22 nm). Snímky byly pořízeny na skenovacím elektronovém mikroskopu Zeiss Ultra Plus (Carl ZEISS) při urychlovacím napětí 3,5 kV a zvětšení 500x, 1 000x, 5 000x a 10 000x. Ze snímků byl vyhodnocen průměr vláken pomocí programu ImageJ 1.48 (30 vláken). Přítomnost jílových minerálů ve vrstvách byla potvrzena také mapováním pomocí energiově disperzní spektroskopie (EDX mapování, Zeiss Ultra Plus, Oxford X-MAXN 80). Měření probíhalo při zvětšení 1800x (oblast přibližně $(110 \times 75) \mu\text{m}^2$), urychlovacím napětí 10 kV a byly měřeny energie 0–10 keV.

5.4.3. Ramanova spektroskopie

Pro měření spekter jílových minerálů a nanovláknenných vrstev byl použit přístroj inVia Qontor Raman microscope (Renishaw). Vzorky nemusely být nijak upravovány, nanovláknenné vrstvy byly měřeny na kovové podložce, práškové vzorky byly umístěny do kovových držáků s dutinou a povrch vzorku byl zarovnan. Byl použit He-Ne laser o vlnové délce 633 nm. Pro mapování byla vybrána oblast $(45 \times 40) \mu\text{m}^2$ s krokem $1 \mu\text{m}$ (46×41 spekter). Byl použit objektiv se zvětšením 100x, doba měření (acquisition time) 3 s a 5 akumulací. Získaná spektra byla zpracována v programu OriginPro, mapy v programech WiRE, MATLAB a SigmaPlot.

5.4.4. Antimikrobiální testy

Pro testování účinnosti antimikrobiální látky byla zvolena difúzní plotnová metoda (2D uspořádání). Testování probíhalo na bakteriích *Staphylococcus aureus* (grampozitivní koky) a *Pseudomonas aeruginosa* (gramnegativní tyčinky).

Byla připravena mikrobiální suspenze 0,5 McFarlanda (odpovídá koncentraci cca 108 CFU/ml) výše zmíněných bakterií v tlumivém roztoku s NaCl. Pro samotné testování byla suspenze dále naředěna na přibližnou koncentraci 104 CFU v 100 µl. Tento objem byl vyočkován na povrch trypton-sojového agarů v Petriho miskách a suspenze byla rovnoměrně rozetřena po povrchu celé misky sterilní hokejkou. Po vsáknutí suspenze do agarů byly na jeho povrch sterilně přeneseny testované vzorky (přibližně (1 x 1) cm² nanovlákněné vrstvy odstraněné ze substrátu). Misky s testovacími kmeny a vzorky byly uloženy ke kultivaci při 30–35 °C na dobu 24 hodin.

5.4.5. Uvolňování chlorhexidinu (testy vyluhovatelnosti)

Testy uvolňování chlorhexidinu z nanovlákněných vrstev byly provedeny pro vzorky s nejvyšším obsahem kompozitu chlorhexidin/jíl – 8CH/Ver_PCL, 8 CH/Ver_PU, 8CH/Kao_PCL a 8CH/Kao_PU podle Rozhodnutí Rady 2003/33/EC. K přibližně 30 mg nanovlákněné vrstvy bylo přidáno odpovídající množství destilované vody (10 mg/10 ml). Vzorky byly umístěny na třepačku po dobu 24 hodin při laboratorní teplotě 20°C. Poté byly vzorky 10x zředěny a byla měřena absorbance pomocí UV-VIS spektroskopie (CINTRA 303, GBC Scientific Equipment). Chlorhexidin acetát má absorpční peak na 254 nm, z hodnoty absorbance na této vlnové délce lze kvalitativně určit míru uvolňování chlorhexidinu ze vzorků.

6. Výsledky a diskuze

6.1. Elektrostatické zvlákňování

Cílem práce bylo připravit takové homogenní vrstvy, které budou dále analyzovány a mělo by tak být možné s nimi jednoduše manipulovat. Nejčastěji užívanou konfigurací při využití metody elektrostatického zvlákňování je kombinace statického jedno jehlového emitoru a deskového statického kolektoru nebo rotujícího válce. Jedno jehlový emitor má mnoho výhod, např. to, že není nutné vzhledem ke koncentraci náboje na malou plochu jehly použít příliš vysoké napětí, nevýhodou je však relativně malá produkce. Při kombinaci statické jehly s rotujícím kolektorem tak často vzniká pouze úzký pruh nanovlákněné vrstvy. Pokud se však emitor rozpohybuje tak, aby byla pokryta celá šíře kolektoru (v našem případě 10 cm), budou nanovláknena dosedat rovnoměrně po celé šířce kolektoru. Větší počet jehel pak zajistí dostatečnou produkci pro vytvoření samonosných nanovlákněných vrstev [35; 36]. Námi zvolená konfigurace, tedy dvě pohyblivé jehly pod rotujícím kolektorem, tak vedla po dvou hodinách vláknnění ve všech případech k vytvoření homogenní samonosné nanovlákněné vrstvy. Nejdříve byly připraveny vrstvy čistých polymerů PU a PCL, při jejichž vláknnění byly nalezeny podmínky dále aplikovatelné při vláknnění suspenzí. Následně tak byly připraveny nanovlákněné vrstvy těchto polymerů s přídavkem 2, 5 a 8 hm. % vermikulitu, chlorhexidin/vermikulitu, kaolinitu a chlorhexidin/kaolinitu (Obr. 12). Většina suspenzí se vláknila bez problémů se stejným nastavením jako čisté polymerní roztoky. Nicméně suspenze 5Kao_PCL, 8Kao_PCL a 8CH/Kao_PCL i přes zvýšení dávkování zasychaly na vrcholu jehly a zvlákňovací proces bylo nutno přerušovat.

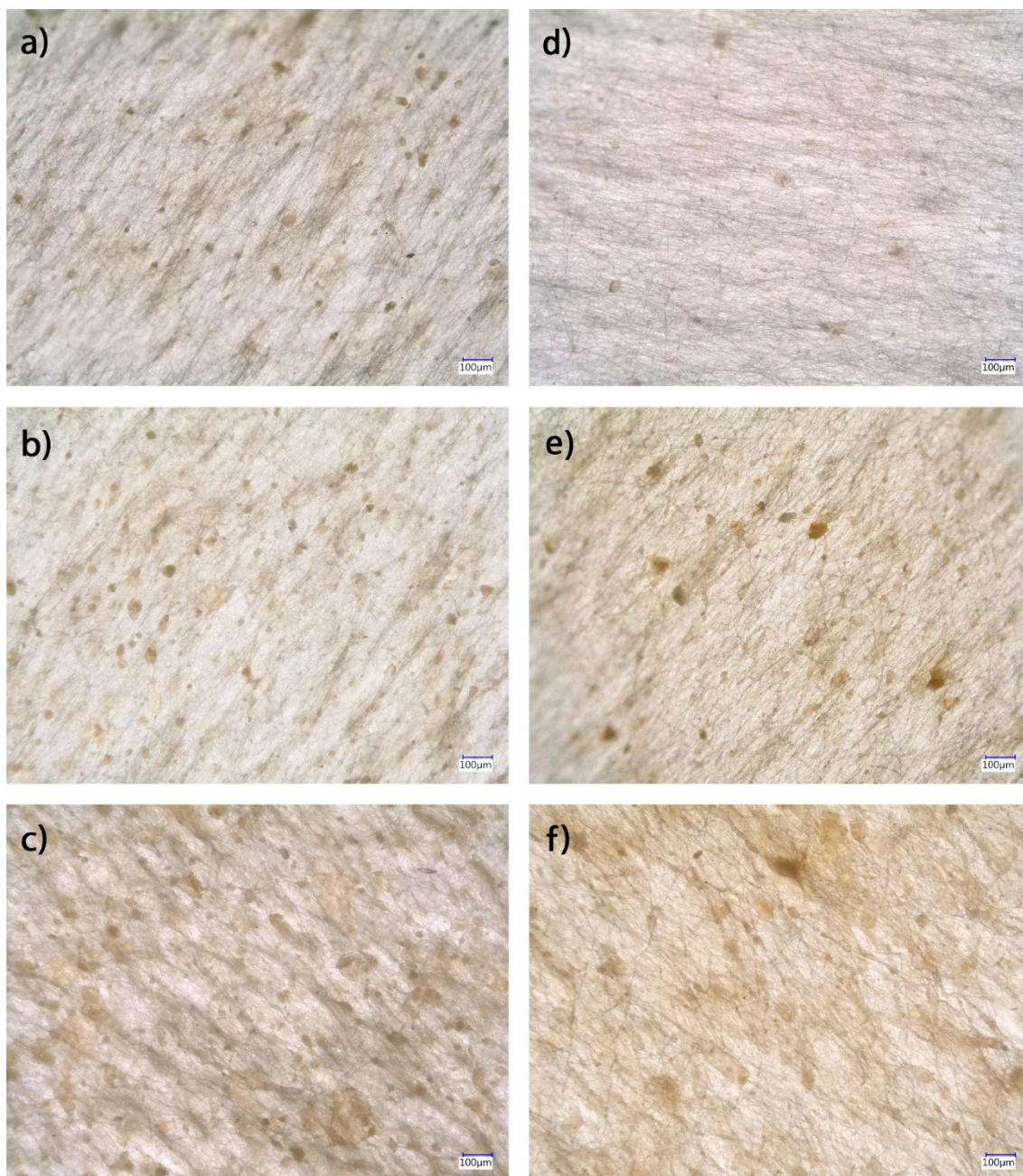


Obrázek 12: 8CH/Ver_PU (vlevo) a 5CH/Kao_PU (vpravo).

6.2. Digitální mikroskopie

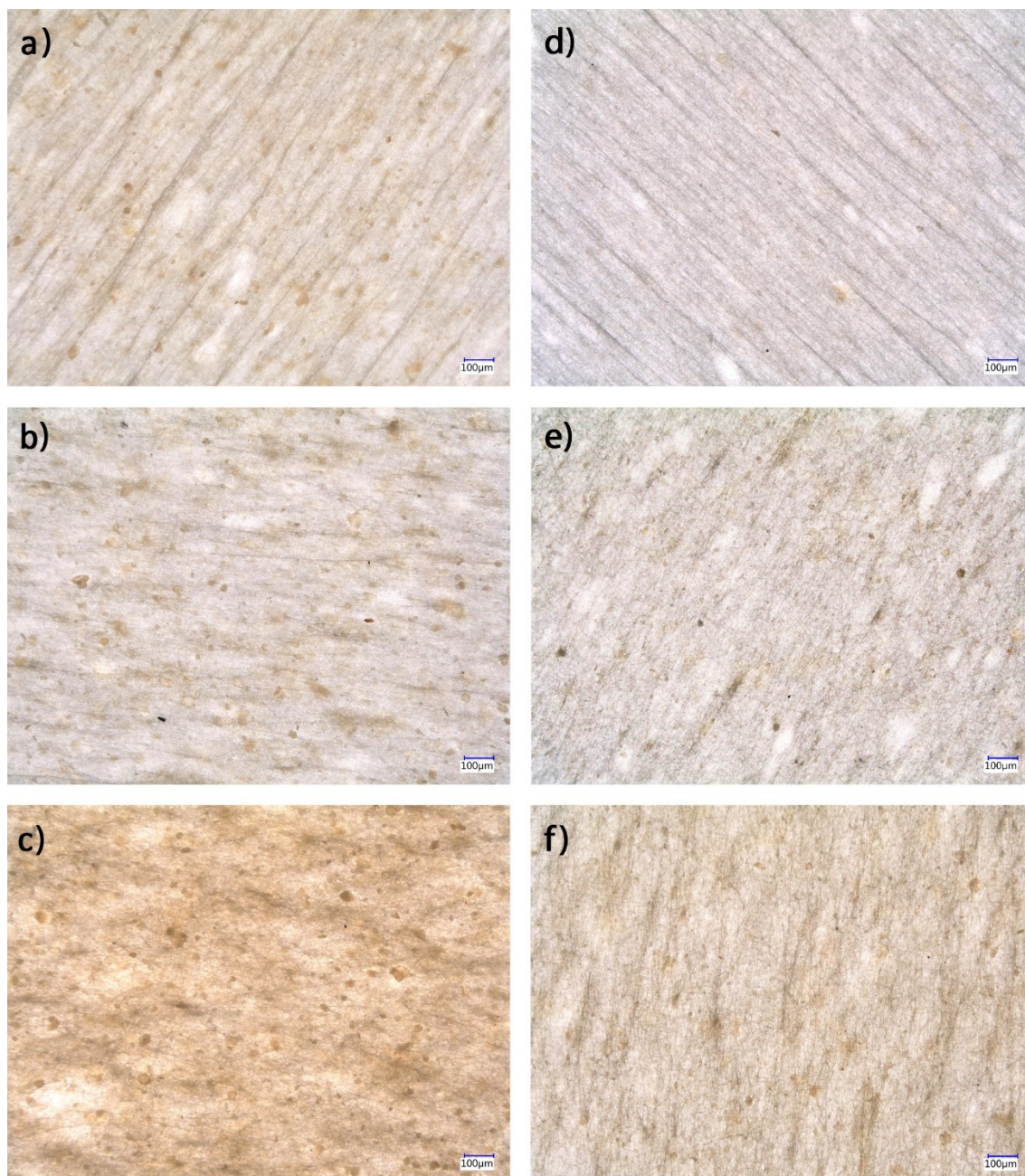
Velikosti částic jílových materiálů (agregátů/aglomerátů) a stejně tak průměr připravených vláken umožnili zobrazení vrstev také optickou mikroskopií, jejíž velkou výhodou je možnost zobrazení relativně velké plochy připraveného materiálu. Samozřejmě je nutné brát v potaz difrakční limity dané metody, nicméně současným využitím elektronové mikroskopie získáme představu o distribuci částic všech očekávaných velikostí i případných agregátů.

Pomocí digitální optické mikroskopie tak byla opticky potvrzena přítomnost vermikulitu a CH/vermikulitu v nanovlákně vrstvě, což bylo z velké části umožněno žlutohnědým až zelenohnědým zbarvením částic. Nárůst obsahu jílu ve vrstvách s jeho rostoucí koncentrací ve výchozí suspenzi je zřejmý – na Obr. 13 c) 8 % Ver v PCL a f) 8 % CH/Ver v PCL je v nanovlákně vrstvě znatelně více jílových částic než na Obr. 13 a) 2 % Ver v PCL a d) 2 % CH/Ver v PCL. Průměrná velikost částic ve vrstvách 8Ver_PCL a 8CH/Ver PCL byla $(38,6 \pm 38,6) \mu\text{m}$ a $(31,8 \pm 14,8) \mu\text{m}$, některé částice přesahovaly velikost $40 \mu\text{m}$, i když velikostní frakce Ver a CH/Ver byla pod $40 \mu\text{m}$. To může znamenat, že se v suspenzi vytvořily aglomeráty nebo agregáty, které nebyly rozbity ani homogenizováním. Ty byly následně při zvlákňování inkorporovány do vrstvy.



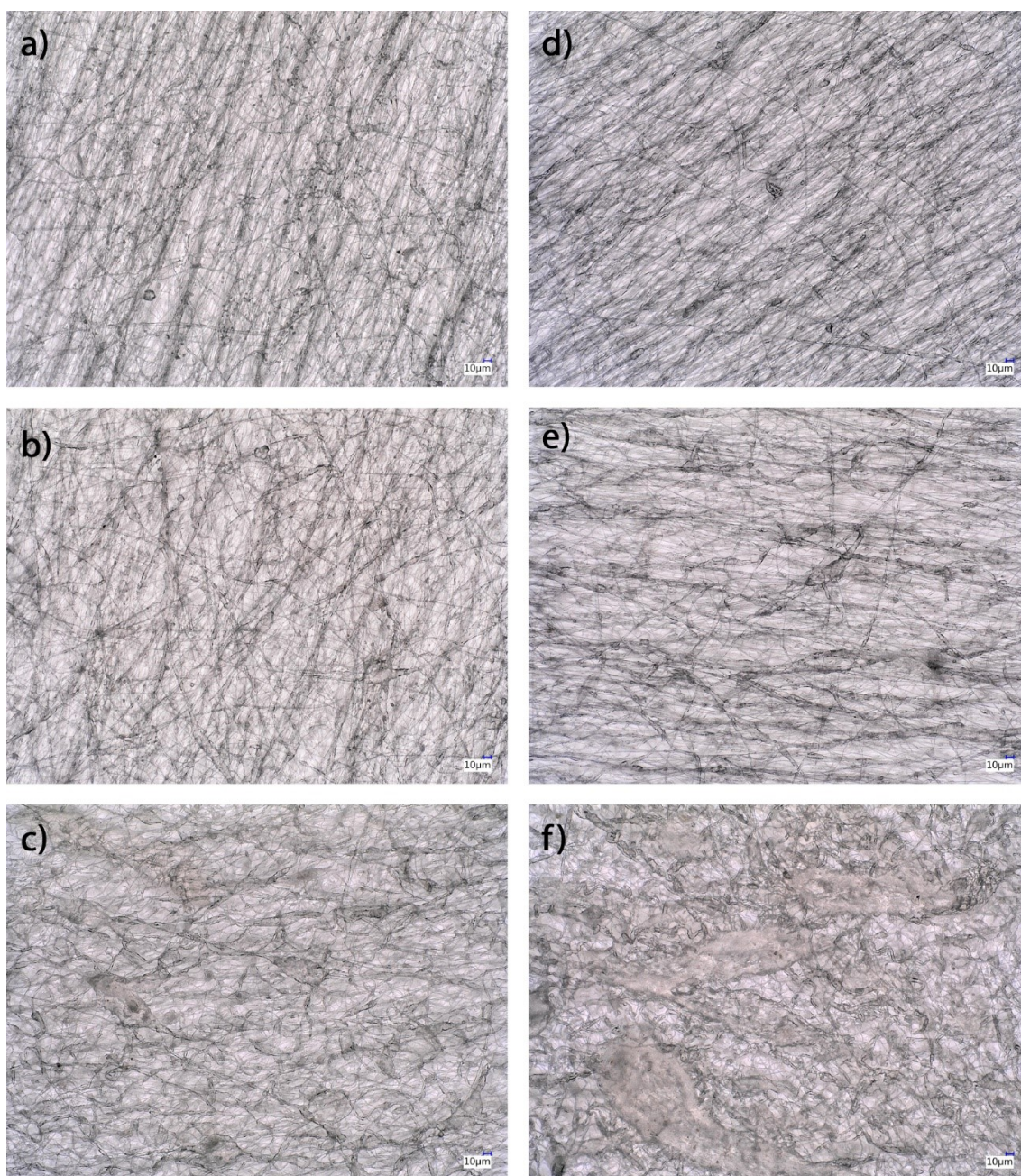
Obrázek 13: Snímky PCL vláken s Ver a CH/Ver (zvětšení 200x): a) 2Ver_PCL, b) 5Ver_PCL, c) 8Ver_PCL, d) 2CH/Ver_PCL, e) 5CH/Ver_PCL, f) 8CH/Ver_PCL.

V případě nanovláknenných vrstev s polyuretanem lze pomocí snímků z digitálního mikroskopu (Obr. 14) také potvrdit, že obsah jílu ve vrstvě stoupá s jeho koncentrací v suspenzi. Na rozdíl od PCL vrstev je průměrná velikost jílových částic ($14,7 \pm 9,4$) μm pro 8Ver_PU a ($13,6 \pm 10,4$) μm pro 8CH/Ver_PU a částice nepřesahují velikost 40 μm , což znamená, že byly v suspenzi lépe dispergovány a nedocházelo k tvorbě aglomerátů.



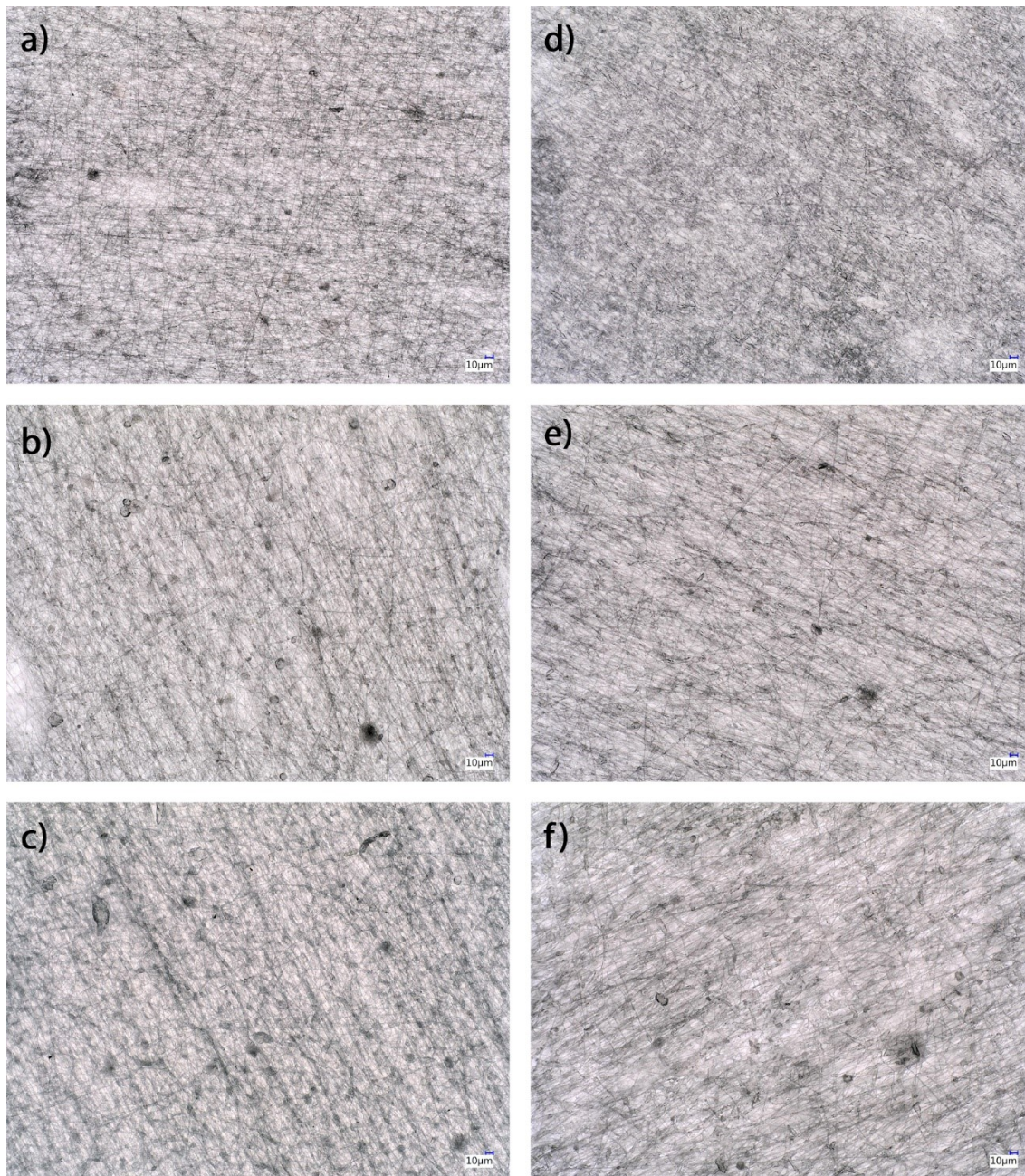
Obrázek 14: Snímky PU vláken s Ver a CH/Ver (zvětšení 200x): a) 2Ver_PU, b) 5Ver_PU, c) 8Ver_PU, d) 2CH/Ver_PU, e) 5CH/Ver_PU, f) 8CH/Ver_PU.

Částice kaolinitu a CH/kaolinitu jsou na snímcích z digitálního mikroskopu tmavé nebo s tmavými okraji. Na Obr. 15 a 16 lze sledovat nárůst množství částic ve vrstvě s jejich koncentrací ve výchozí suspenzi. Především ve vzorcích s 8 hm. % Kao a CH/Kao lze pozorovat, že jílové částice se shlukují a tvoří ve vláknech aglomeráty. Velikost částic byla $(26,9 \pm 11,0) \mu\text{m}$ pro 8Kao_PCL a $(30,3 \pm 18,8) \mu\text{m}$ pro CH/Kao_PCL, kdy určité částice přesahovaly velikost $40 \mu\text{m}$. Morfologie Kao_PCL a CH/Kao_PCL vláken se neliší s výjimkou vzorků s 8 hm. % jílu (Obr. 15 c, f), 8CH/Kao_PCL obsahuje větší částice aglomerátů.



Obrázek 15: Snímky PCL vláken s Kao a CH/Kao (zvětšení 500x): a) 2Kao_PCL, b) 5Kao_PCL, c) 8Kao_PCL, d) 2CH/Kao_PCL, e) 5CH/Kao_PCL, f) 8CH/Kao_PCL.

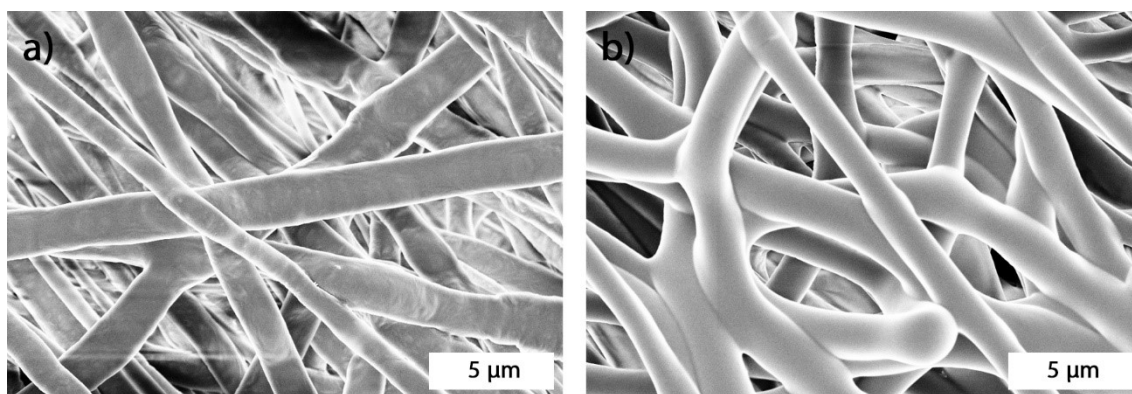
V Kao_PU a CH/Kao_PU vrstvách (Obr. 16) jsou jílové částice lépe dispergované než v PCL vrstvách a nedochází k tvorbě aglomerátů, stejně jako v případě vrstev s vermikulitem. Průměrná velikost částic byla $(9,9 \pm 6,4) \mu\text{m}$ pro 8Kao_PU a $(9,7 \pm 7,3) \mu\text{m}$ pro CH/Kao_PU.



Obrázek 16: Snímky PU vláken s Kao a CH/Kao (zvětšení 500x): a) 2Kao_PU, b) 5Kao_PU, c) 8Kao_PU, d) 2CH/Kao_PU, e) 5CH/Kao_PU, f) 8CH/Kao_PU.

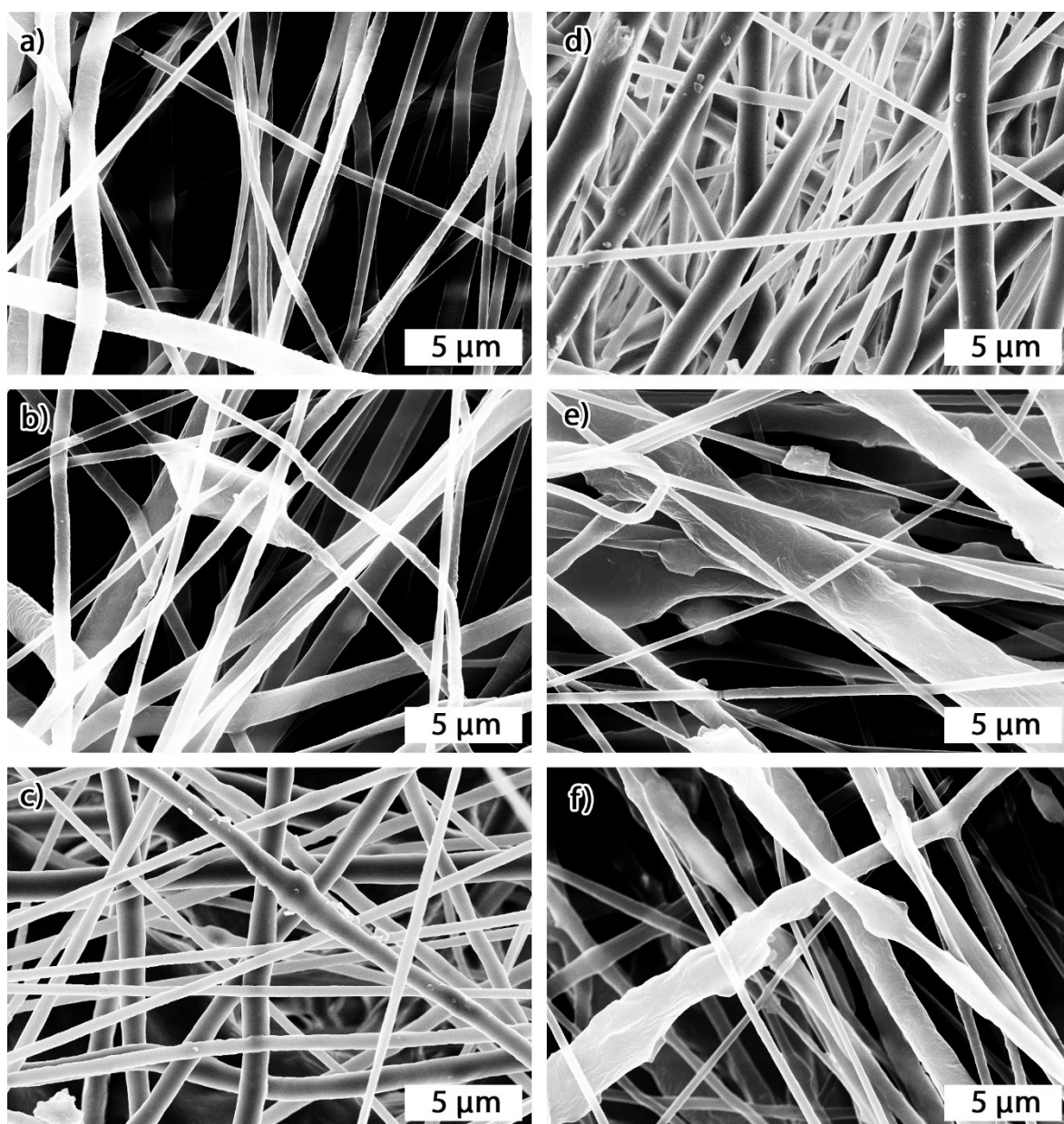
6.3. Elektronová mikroskopie

Na elektronovém mikroskopu byly pořízeny snímky při zvětšení 500x, 1 000x, 5 000x a 10 000x, ale pro větší přehlednost jsou v textu této diplomové práce prezentovány jen snímky se zvětšením 5 000x. Na Obr. 17 lze vidět snímky vláken PCL (Obr. 17 a) a PU (Obr. 17 b). Vlákná jsou spojitá a hladká, s nehomogenním průměrem. To mohlo být způsobeno tím, že při ES docházelo postupně k vytváření izolační vrstvy na kolektoru a vlákna nanášená na počátku procesu tak mohla být tenčí. Průměr vláken byl (1416 ± 522) nm pro PCL a (1629 ± 311) nm pro PU.

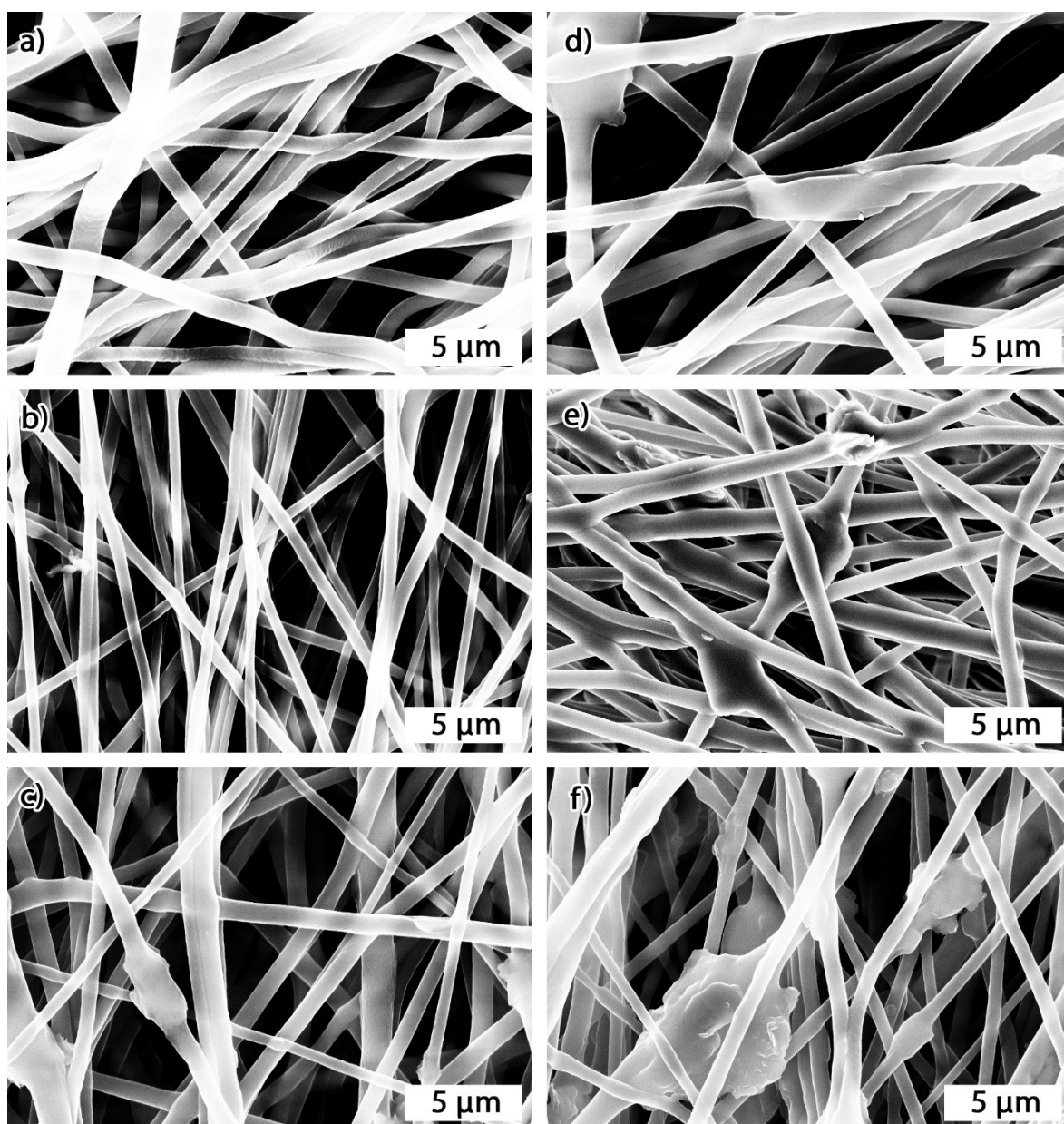


Obrázek 17: SEM snímky vláken čistých polymerů (zvětšení 5000x): a) PCL b) PU.

Na snímcích ze SEM lze podobně jako na snímcích z digitálního mikroskopu pozorovat, že jílových částic přibývá s rostoucí koncentrací jílu. Na Obr. 18 jsou SEM snímky Ver a CH/Ver různých koncentrací v PCL vláknech. Se vzrůstající koncentrací jílových minerálů klesá homogenita průměru vláken. Ve vzorcích s vyšším obsahem jílu mají široká vlákna vrstevnatou strukturu, jílové částice tedy byly pravděpodobně inkorporovány do vláken. Na Obr. 19 jsou SEM snímky Ver a CH/Ver různých koncentrací v PU vláknech. Na rozdíl od vzorků Ver a CH/Ver v PCL částice vermikulitu často přesahují průměr vláken a pravděpodobně nejsou plně obklopeny polymerem. Ve vzorcích s CH/Ver je více viditelných krystalů jílových částic nebo antiseptika na rozdíl od vzorků s čistým Ver.

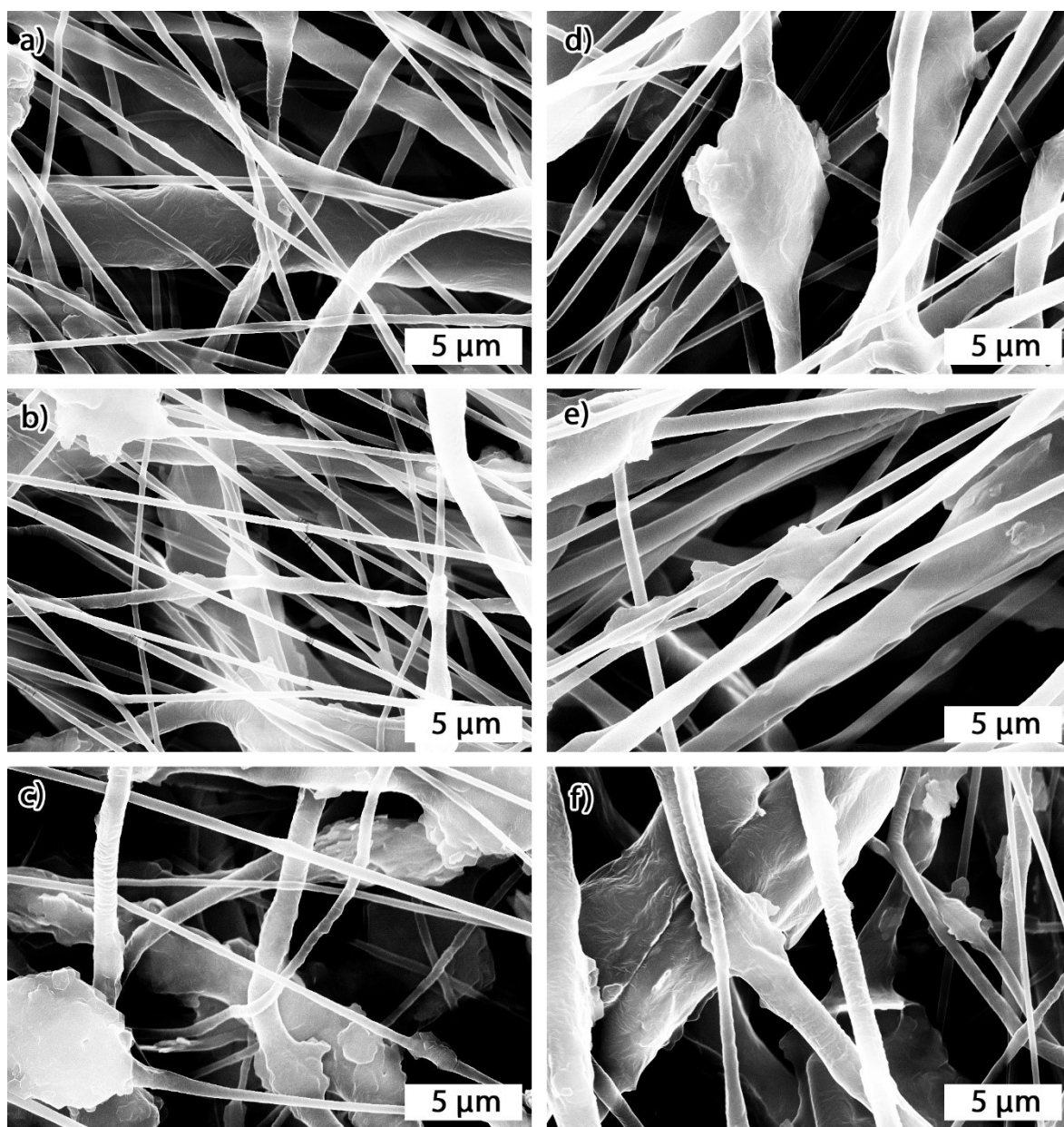


Obrázek 18: SEM snímky PCL vláken s vermikulitem a chlorhexidin/vermikulitem (zvětšení 5000x):
 a) 2Ver_PCL, b) 5Ver_PCL, c) 8Ver_PCL, d) 2CH/Ver_PCL, e) 5CH/Ver_PCL, f) 8CH/Ver_PCL.

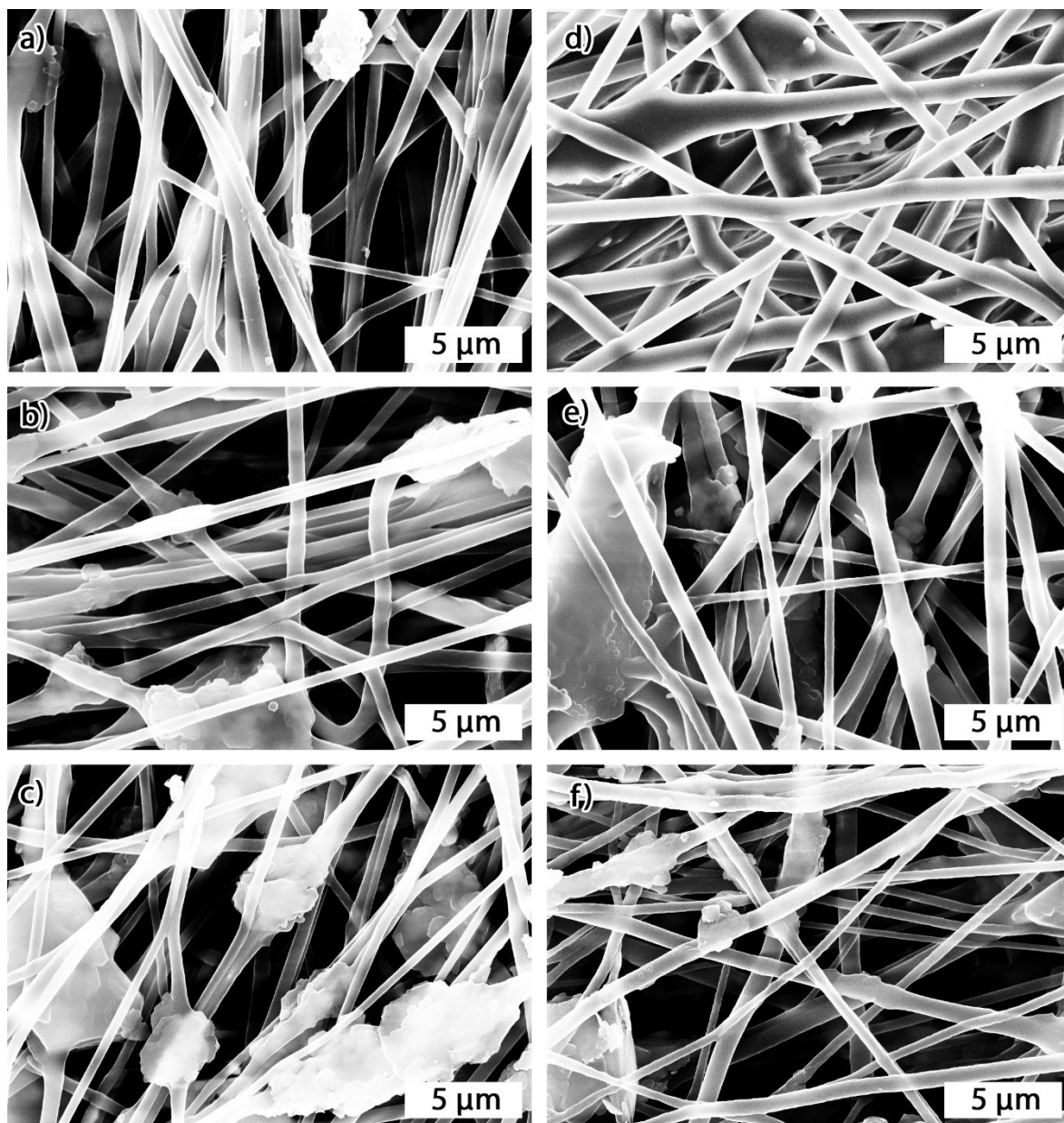


Obrázek 19: SEM snímky PU vláken s vermikulitem a chlorhexidin/vermikulitem (zvětšení 5000x):
a) 2Ver_PU, b) 5Ver_PU, c) 8Ver_PU, d) 2CH/Ver_PU, e) 5CH/Ver_PU, f) 8CH/Ver_PU.

Na Obr. 20 jsou SEM snímky Kao a CH/Kao různých koncentrací v PCL nanovlákních. Vlákná mají nehomogenní průměr, tenká vlákna jsou převážně hladká, kdežto širší vlákna mají drsnou texturu s vrstevnatou strukturou (Obr. 20 c). To naznačuje, že jílové částice byly pravděpodobně inkorporovány do vláken. Na Obr. 21 jsou SEM snímky Kao a CH/Kao různých koncentrací v PU vláknech. Na rozdíl od jílu/PCL vzorků lze na povrchu pozorovat více vloček kaolinitu, takže jílové částice byly pravděpodobně na povrchu vláken, nebo nebyly úplně inkorporovány do polymeru. Na obou obrázcích (Obr. 20 a 21) je zřejmý nárůst obsahu jílu s jeho zvyšující se koncentrací. Morfologie vzorků obsahujících Kao a CH/Kao se významně neliší.



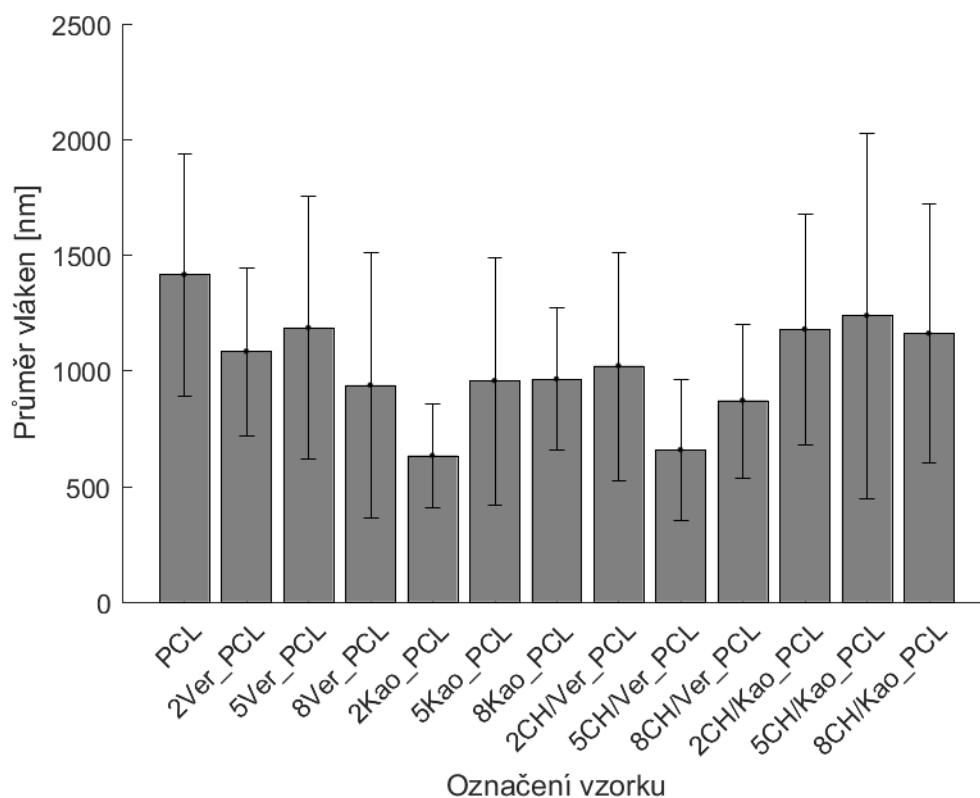
Obrázek 20: SEM snímky PCL vláken s kaolinitem a chlorhexidin/kaolinitem (zvětšení 5000x):
a) 2Kao_PCL, b) 5Kao_PCL, c) 8Kao_PCL, d) 2CH/Kao_PCL, e) 5CH/Kao_PCL, f) 8CH/Kao_PCL.



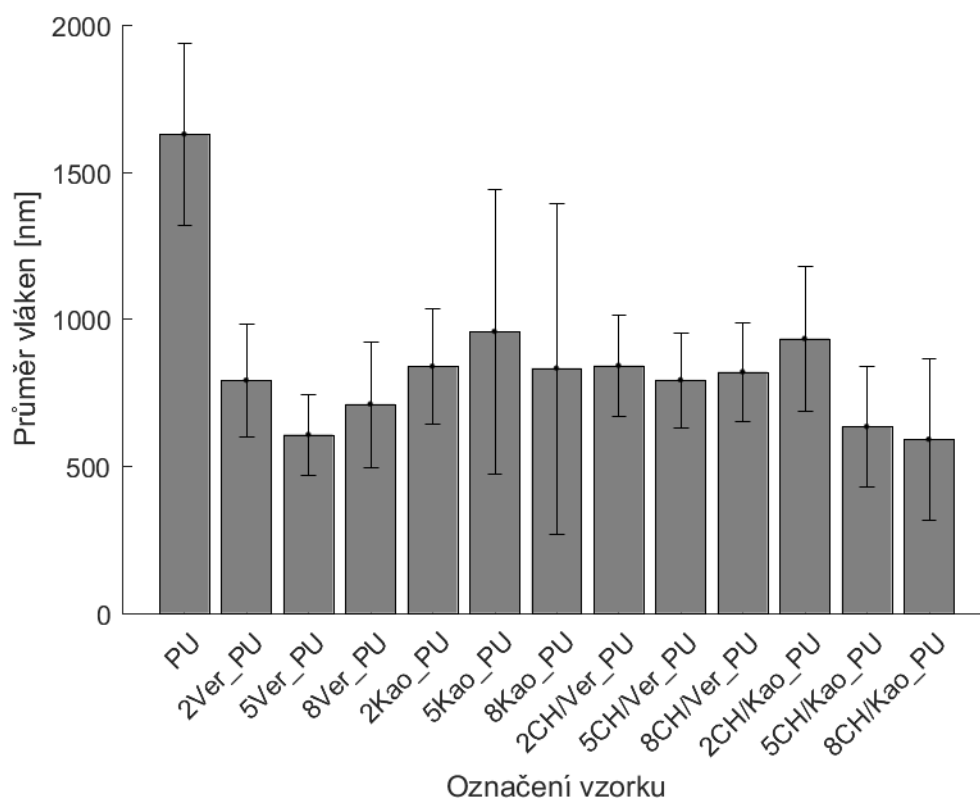
Obrázek 21: SEM snímky PU vláken s kaolinitem a chlorhexidin/kaolinitem (zvětšení 5000x):
a) 2Kao_PU, b) 5Kao_PU, c) 8Kao_PU, d) 2CH/Kao_PU, e) 5CH/Kao_PU, f) 8CH/Kao_PU.

6.3.1. Průměr vláken

Na Obr. 22 a 23 je znázorněn průměr vláken jednotlivých vzorků se standardní odchylkou. Průměr vláken čistých polymerů PCL a PU je vyšší, než průměr vláken s přidavkem jílových minerálů, avšak nelze sledovat žádný trend průměru vláken v závislosti na množství přidanych jílových minerálů. Průměr vláken jíl/PCL se pohyboval v rozmezí 200 nm až 5 μm a jíl/PU v rozmezí 200 nm až 2,5 μm. Průměr vláken jíl/PU je u většiny vzorků více homogenní v porovnání s jíl/PCL vlákny (nižší standardní odchylka).



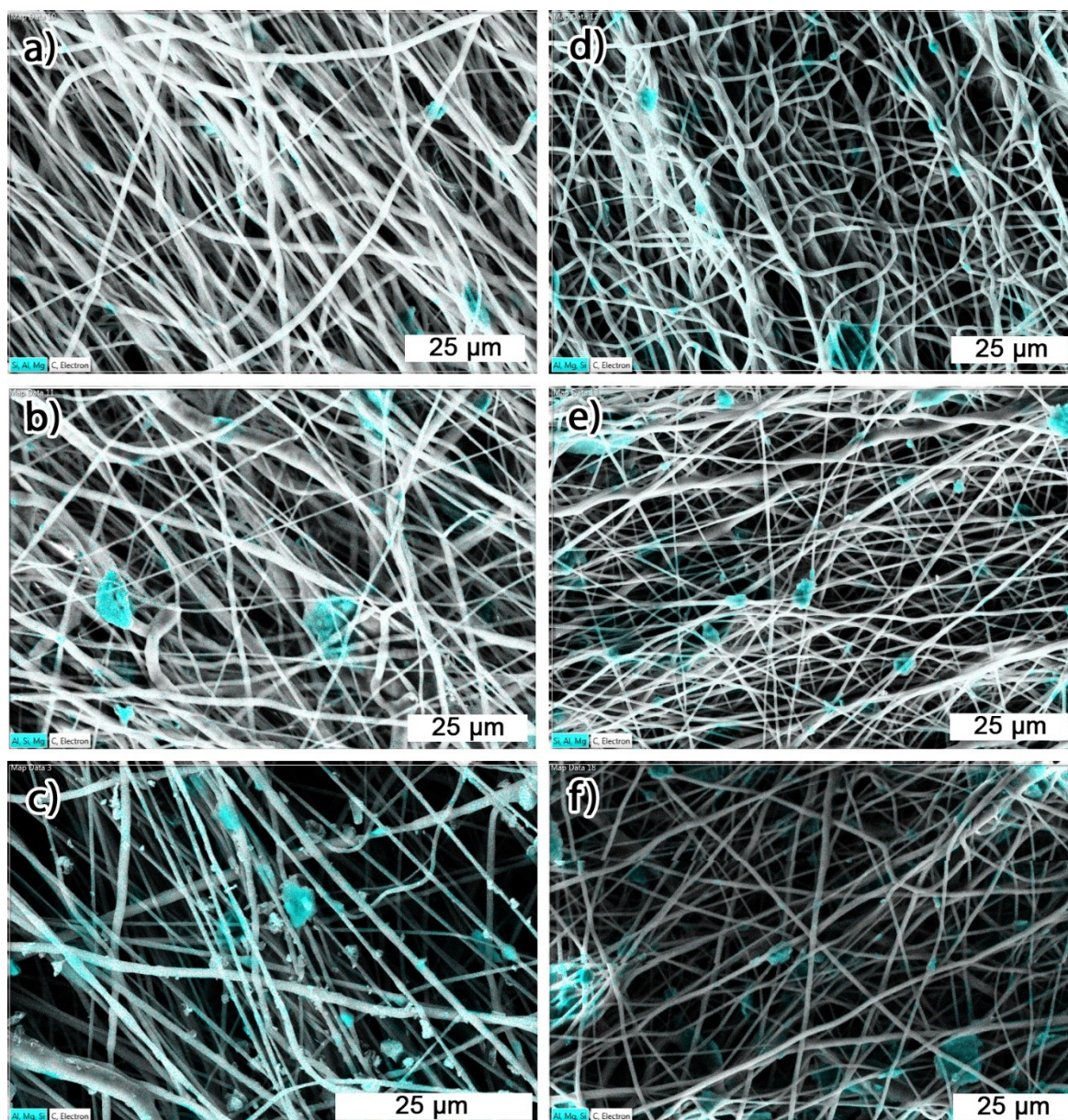
Obrázek 22: Průměr PCL vláken (30 vláken) se standardní odchylkou.



Obrázek 23: Průměr PU vláken (30 vláken) se standardní odchylkou.

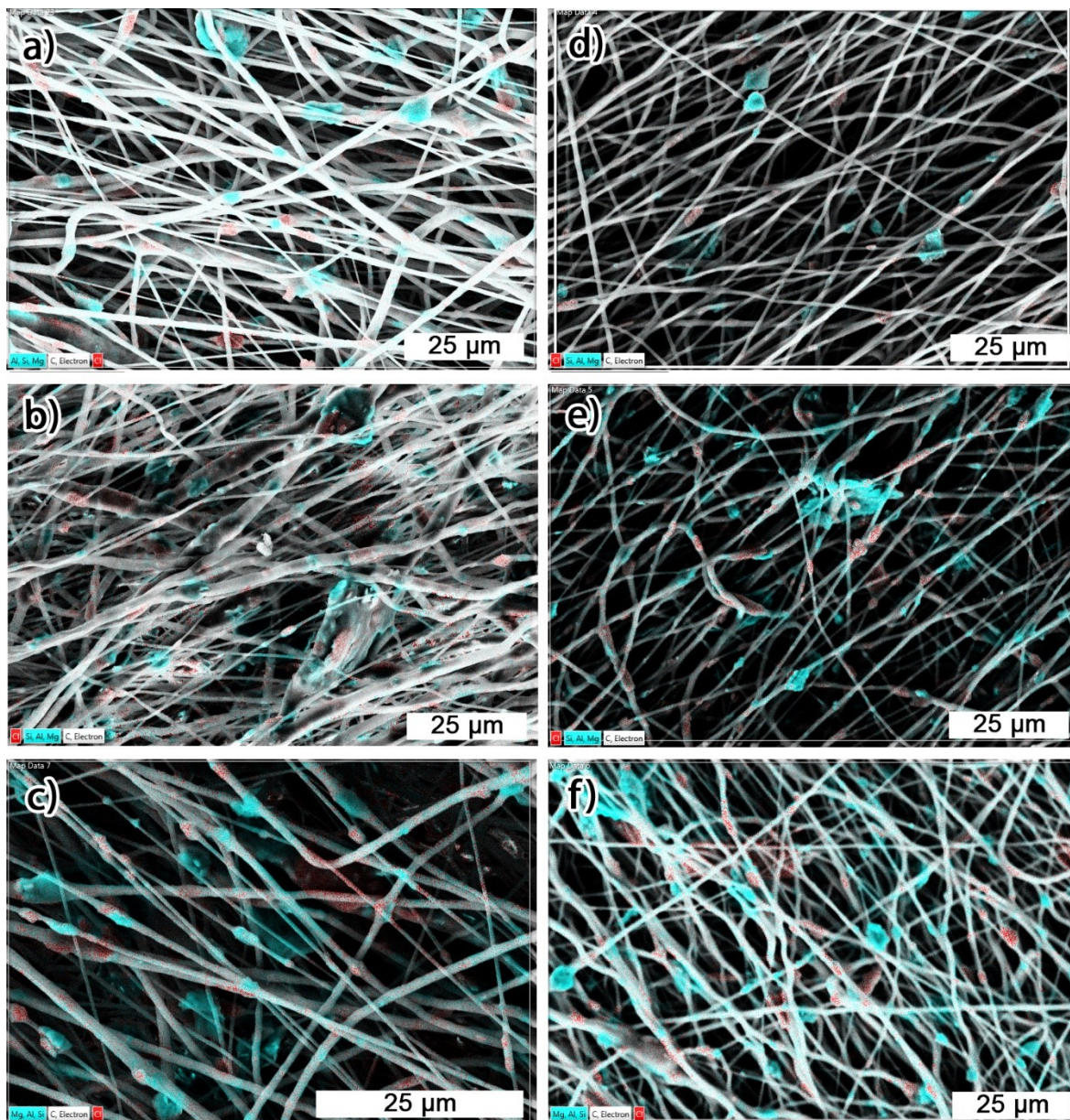
6.4. EDX mapování

Distribuce jílových minerálů byla zobrazena EDX mapováním pomocí prvků, ze kterých jsou majoritně složeny. Konkrétně to byl křemík, hliník a hořčík pro vermikulit a v případě kaolinitu to byl křemík a hliník. Tyto prvky byly v mapách zobrazeny modře. Červeně byl zobrazen chlor, pomocí něhož byla sledována distribuce chlorhexidinu. V nanovláknenných vrstvách obsahujících vermikulit (Obr. 24), byly jílové částice koncentrovány převážně podél vláken, nicméně větší částice (jejichž průměr několikanásobně přesahuje průměr vláken) byly uloženy mezi vlákny.



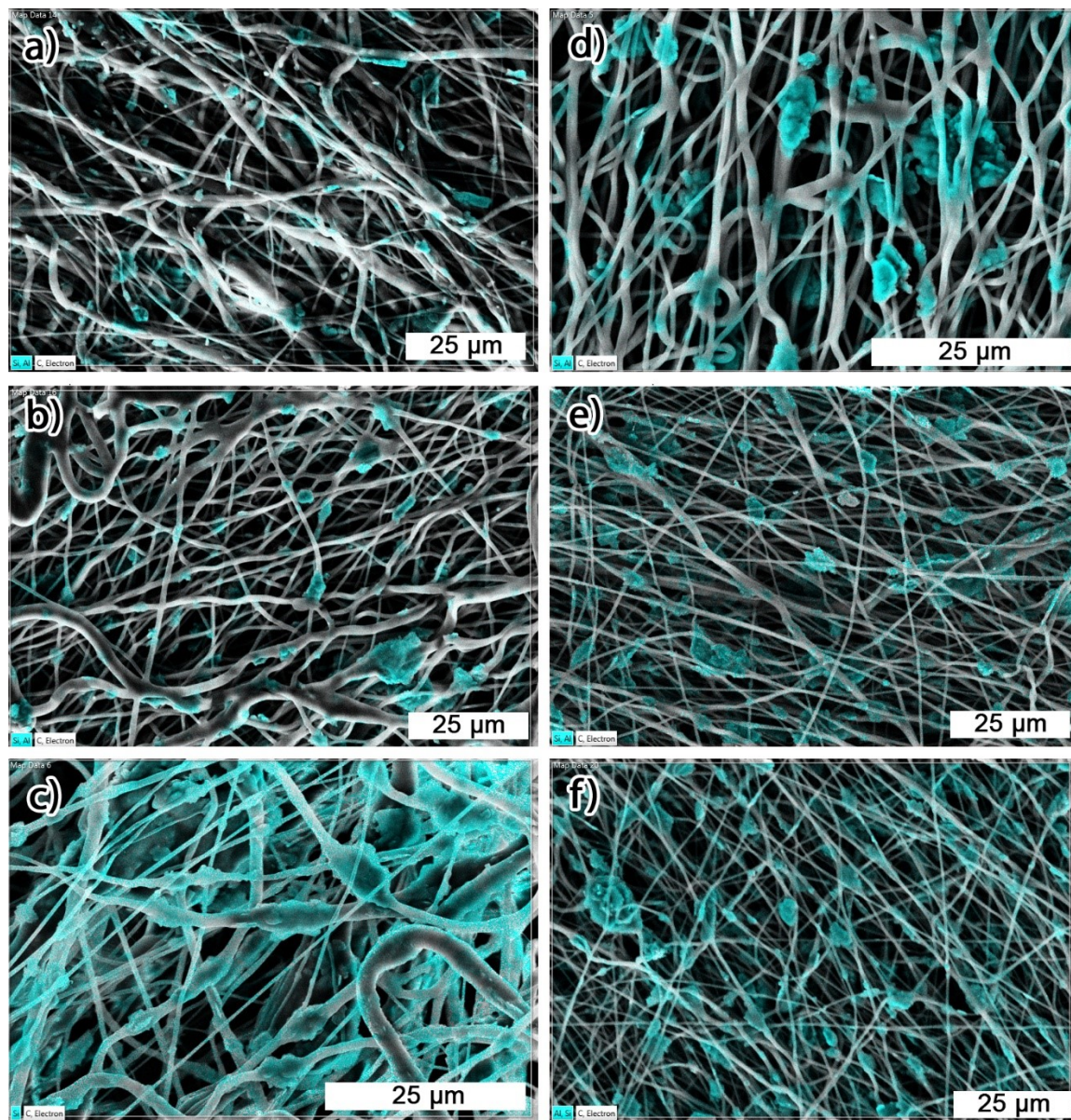
Obrázek 24: EDX mapy, modře: Si, Al, Mg: a) 2Ver_PCL, b) 5Ver_PCL, c) 8Ver_PCL, d) 2Ver_PU, e) 5Ver_PU, f) 8Ver_PU.

V nanovláknenných vzorcích obsahujících CH/Ver (Obr. 25), nebyl chlorhexidin vždy situován v místě vermikulitové matrice. Lze pozorovat mnoho míst, kde byl nalezen pouze CH nebo Ver. To znamená, že interkalační proces nebyl dokonalý a chlorhexidin nebyl zcela interkalován do mezivrstev vermikulitu. Tato zjištění odpovídají výsledkům Samlíkové et al. (2017) [9], že i nejvyšší koncentrace CH nad hodnotou kationtové výměnné kapacity nevedla k plné interkalaci CH do vermikulitové matrice a CH byl také ukotven na povrchu jílu.



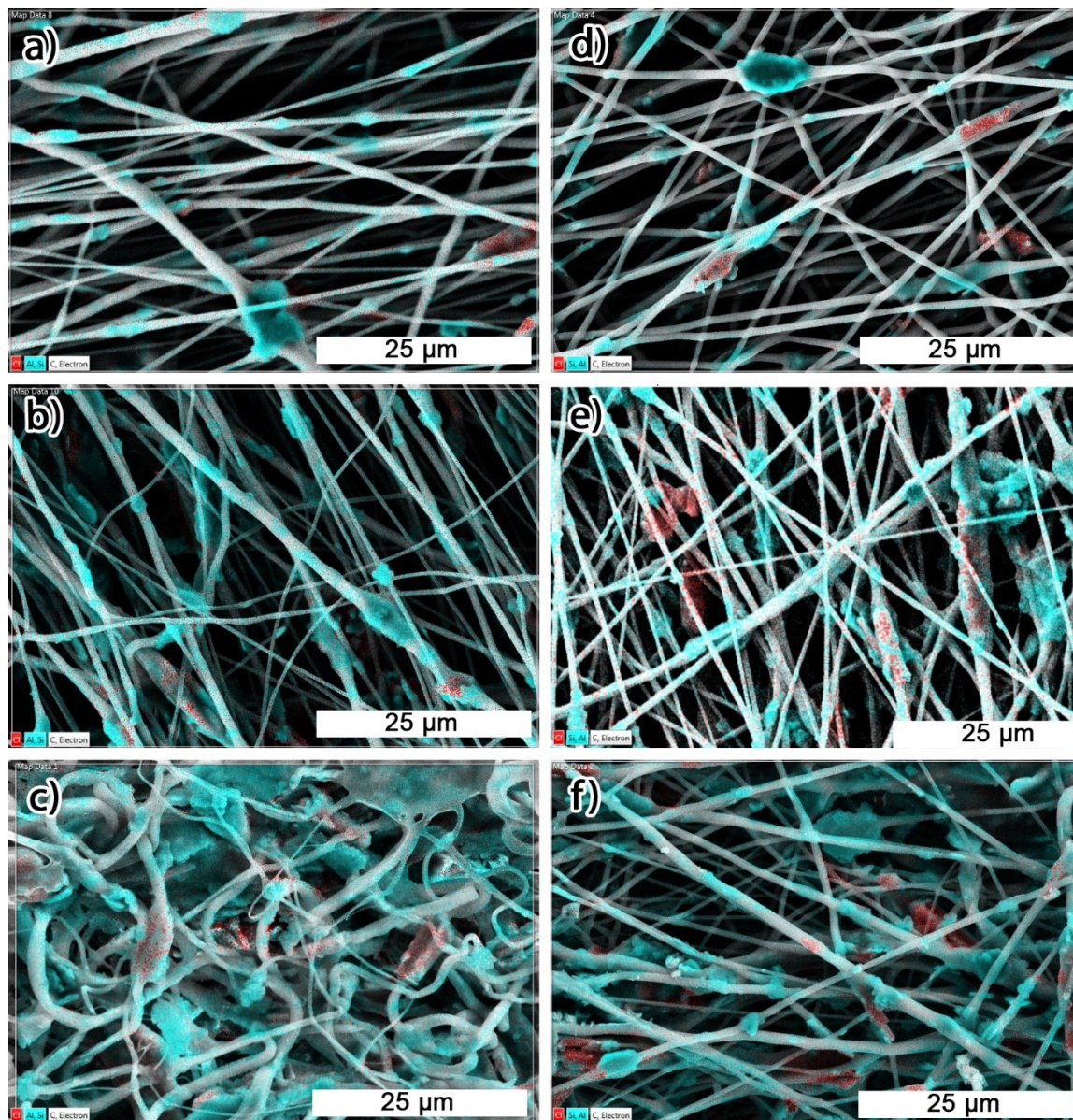
Obrázek 25: EDX mapy, modře: Si, Al, Mg, červeně: Cl: a) 2CH/Ver_PCL, b) 5CH/Ver_PCL, c) 8CH/Ver_PCL, d) 2CH/Ver_PU, e) 5CH/Ver_PU, f) 8CH/Ver_PU.

Stejně jako v případě vzorků s vermikulitem, byl kaolinit v nanovláknenných vrstvách situován především podél vláken (Obr. 26). Kaolinit byl v PU nanovlákních rovnoměrně dispergován. Mapování EDX potvrdilo, že v případě vzorků Kao_PCL byly částice inkorporovány také uvnitř vláken, což bylo také patrné ze SEM snímků.



Obrázek 26: EDX mapy, modře: Si, Al: a) 2Kao_PCL, b) 5Kao_PCL, c) 8Kao_PCL, d) 2Kao_PU, e) 5Kao_PU, f) 8Kao_PU.

U nanovláknenných vzorků obsahujících CH/Kao (Obr. 27) lze pozorovat jak částice kaolinitu bez přítomnosti CH, tak místa, kde se vyskytuje pouze chlorhexidin. Stejný jev byl pozorován také v případě vzorků s CH/Ver. Toto pozorování vede k závěru, že všechn CH nebyl ukotven na kaolinitové matici.



Obrázek 27: EDX mapy, modře: Si, Al, červeně: Cl: a) 2CH/Kao_PCL, b) 5CH/Kao_PCL, c) 8 CH/Kao_PCL, d) 2 CH/Kao_PU, e) 5 CH/Kao_PU, f) 8 CH/Kao_PU.

6.5. Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie je metodou, která umožňuje bodové měření daného vzorku, přičemž měřený objem se pohybuje v řádu jednotek μm^3 . Vzhledem k tomu, že cílem analýzy nebylo vyhodnotit pouze lokální chemické složení, ale zjistit také chemické složení

inkorporovaných částic a případné změny struktury, bylo provedeno mapování. Jednotlivá Ramanova spektra byla měřena pouze v případě výchozích složek. Mapování pak bylo provedeno pouze pro vzorky s nejvyšším obsahem jílu (8 hm. %), kdy pásy patřící jílovým minerálům byly dostatečně silné. Koncentrace jílu v ostatních vrstvách s obsahem jílu 2 a 5 hm. % byla pod detekčním limitem Ramanovy spektroskopie. Distribuce CH/Ver a CH/Kao v nanovlákných vrstvách byla stanovena pomocí komponentní analýzy. Spektra v jednotlivých bodech mapy byla porovnána se spektrem mapovaného komponentu (tedy CH/Ver nebo CH/Kao) a byla vyhodnocena podobnost těchto dvou spekter. Shoda spekter znamená, že se v tomto bodě vyskytuje daný komponent a tyto body jsou vyznačeny červeně. Naopak byla-li spektra velmi rozdílná, bylo vyhodnoceno, že tento komponent se v daném bodě nenachází a je označen fialovou barvou. Barevná legenda pro distribuci daných komponentů je přiložena ke každé Ramanově mapě.

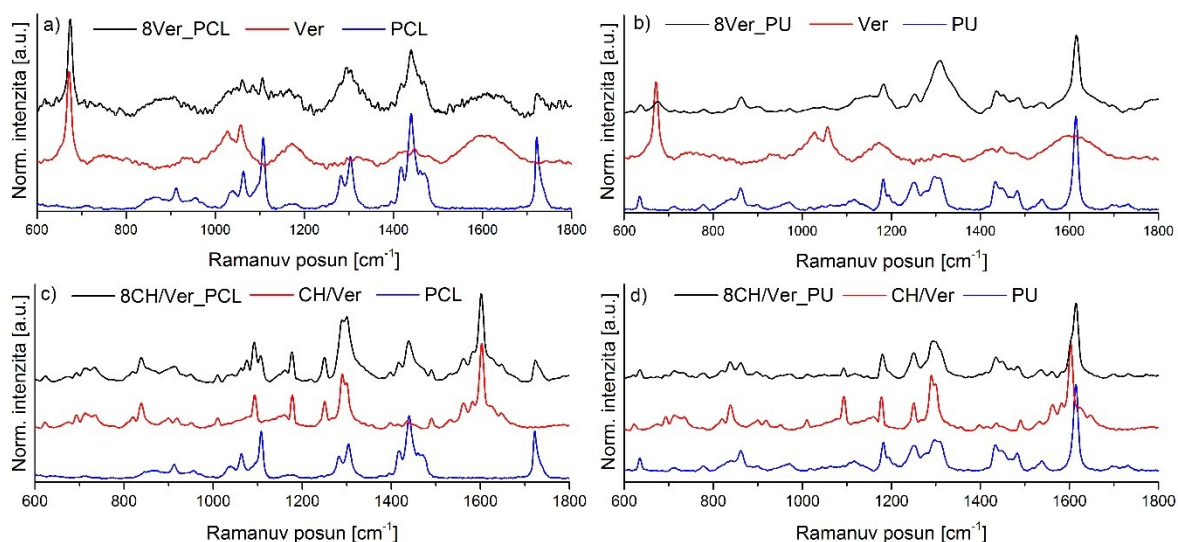
V Tab. 4 jsou shrnuty pozice charakteristických vibračních pásů jednotlivých složek ve vybraných oblastech: použité polymery (PCL a PU, 600–1800 cm^{-1} a 2700–3900 cm^{-1}), vermikulit (600–1800 cm^{-1}) a kaolinit (2700–3900 cm^{-1}).

Tab. 4: Vibrační pásy pro PCL, PU, Ver, Kao a CH ve vybraných oblastech

Polykaprolakton [37]		Polyuretan [38; 39]	
Vlnóčet [cm^{-1}]	Typ vibrace	Vlnóčet [cm^{-1}]	Typ vibrace
865	C-COO valenční	637	Amid IV
912	C-COO valenční	861	C-O-C, C-C-C deformační
954	C-COO valenční	1181	C-O-C valenční, CH deformační (a.k.)
1038	C-C valenční	1251	C-N, C-O valenční
1063	C-C valenční	1297	C-N, C-O valenční
1110	C-C valenční	1433	CH ₂ deformační
1283	CH ₂ kroutivá	1483	CH ₂ deformační
1304	CH ₂ kroutivá	1537	NH deformační, CN valenční
1416	CH ₂ deformační	1614	C=C valenční (a.k.)
1441	CH ₂ deformační	2865	CH ₂ valenční
1459	CH ₂ deformační	2916	CH ₂ valenční
1721	C=O valenční	3062	=C-H valenční
2867	CH ₃		
2913	CH ₃		
Vermikulit [40]		Kaolinit [41]	
Vlnóčet [cm^{-1}]	Typ vibrace	Vlnóčet [cm^{-1}]	Typ vibrace
670	Mg–O _{II} valenční	3619-3621	Al ₂ OH valenční
740	Si–O _I valenční	3648-3650	Al ₂ OH valenční
924	Si–O _{II} valenční	3664-3667	Al ₂ OH valenční

1025	Si–O _I valenční (tetrahedron)	3685-3686	Al ₂ OH valenční (krystaly mírně menší než excitační záření)
1056	Si–O _I valenční	3693-3695	Al ₂ OH valenční (krystaly mnohem menší než excitační záření)

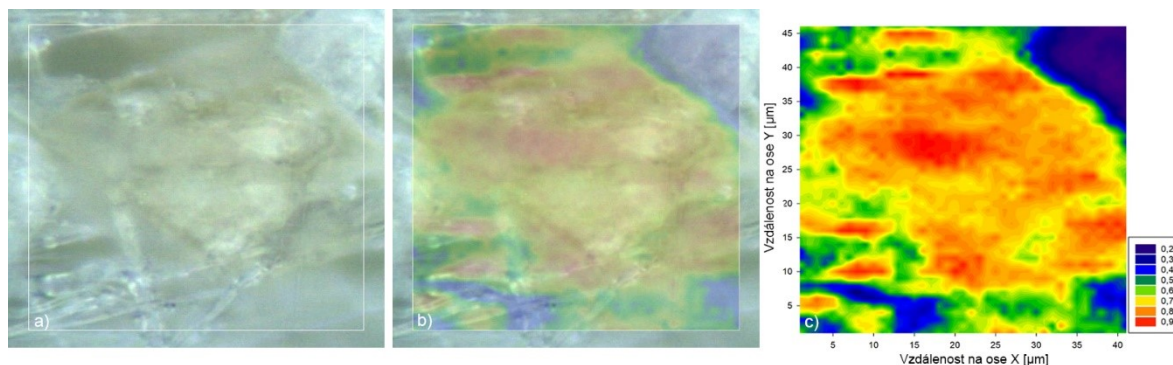
Na Obr. 28 jsou Ramanova spektra pro Ver a CH/Ver v PU a v PCL. Spektra byla měřena v regionu 600–1800 cm⁻¹, kde se vyskytují pásy typické jak pro vermikulit, tak i pro použité polymery. U vermikulitu lze pozorovat pás okolo 670 cm⁻¹ odpovídající Mg-O valenční vibraci, pásy v oblasti 740–1056 cm⁻¹ patří Si-O valenčním vibracím [40]. Po interkalaci vermikulitu chlorhexidinem se spektrum změnilo – přibýly nové pásy patřící chlorhexidinu [42; 43] nebo interakci CH-Ver a pásy čistého vermikulitu jsou méně intenzivní. Ve spektrech všech nanovláknenných vzorků lze pozorovat pouze pásy patřící Ver, CH/Ver a polymerům PCL nebo PU na přibližně stejném vlnočtu. Při přípravě suspenzí nebo při elektrostatickém zvlákňování tedy nedošlo ke změně chemické struktury jílového materiálu ani polymeru. Také nedošlo k vytvoření nových vazeb mezi polymerem a Ver či CH/Ver.



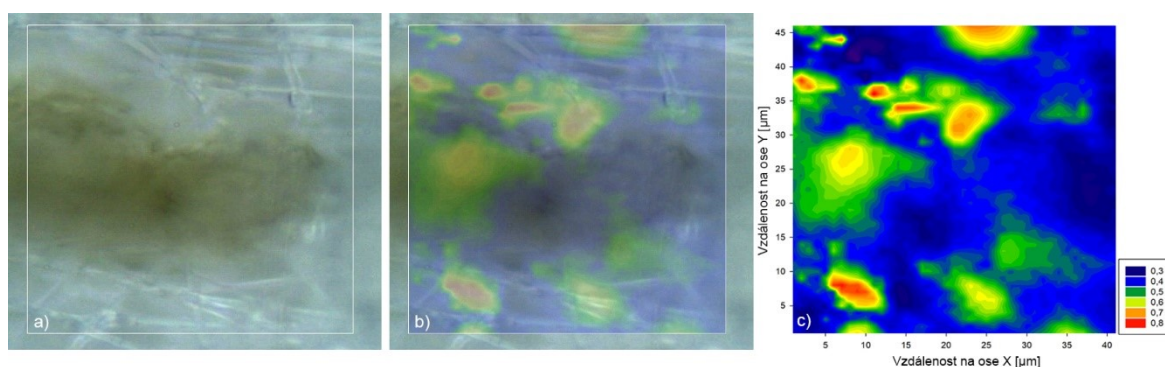
Obrázek 28: Ramanova spektra Ver a CH/Ver v PU a PCL.

Ramanova mapa distribuce CH/Ver v 8CH/Ver_PU (Obr. 29) ukazuje oblast s vysokým obsahem CH/Ver, tato mapa odpovídá snímku ze světelného mikroskopu, na kterém lze pozorovat nazelenalé částice vermikulitu. To značí, že CH byl v této oblasti především interkalován do vermikulitové matrice. U Ramanovy mapy distribuce CH/Ver v 8CH/Ver_PU (Obr. 30) lze pozorovat opačný jev – na snímku ze světelného mikroskopu je patrná Ver částice, ale CH/Ver nebyl detekován v celé této oblasti. To potvrzuje výsledky

EDX mapování, tedy že CH nebyl plně interkalován do vermikulitové matrice. Nicméně nemohla být provedena distribuce neinterkalovaného vermikulitu pro potvrzení jeho přítomnosti, protože pásy patřící vermikulitu nebyly ve spektru dostatečně výrazné nebo se překrývaly s pásy CH/Ver.



Obrázek 29: Snímky z digitálního mikroskopu vzorku 8CH/Ver_PCL (zvětšení 100x) a Ramanova mapa této oblasti: a) snímek ze světelného mikroskopu, b) snímek překrytý Ramanovou mapou, c) Ramanova mapa distribuce CH/Ver.

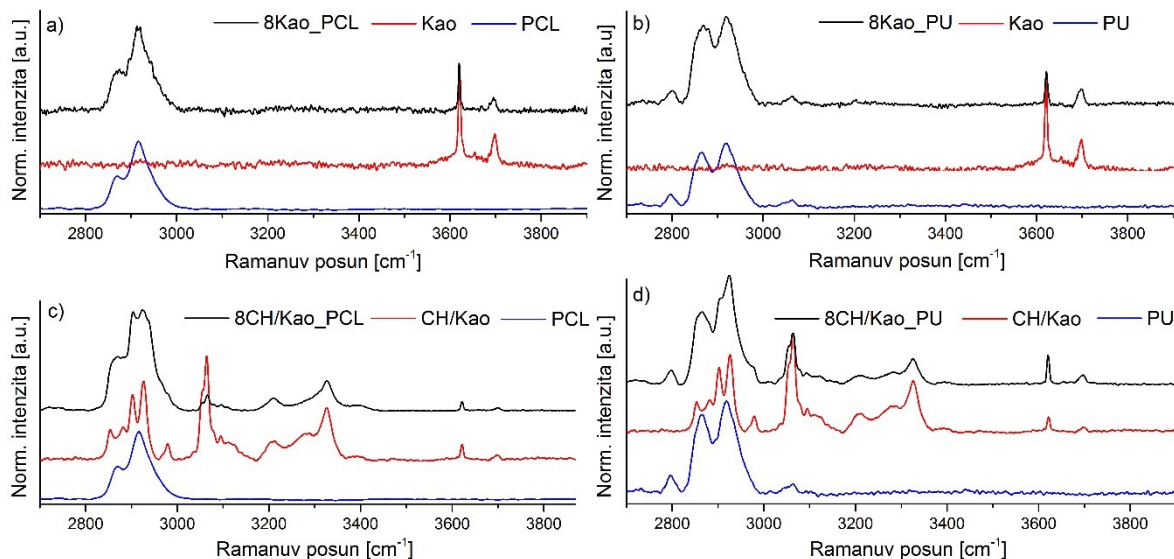


Obrázek 30: Snímky z digitálního mikroskopu vzorku 8CH/Ver_PU (zvětšení 100x) a Ramanova mapa této oblasti: a) snímek ze světelného mikroskopu, b) snímek překrytý Ramanovou mapou, c) Ramanova mapa distribuce CH/Ver.

Na Obr. 31 jsou znázorněna spektra nanovláknenných vzorků Kao a CH/Kao v PU a PCL. Spektra byla měřena v oblasti $2700\text{--}3900\text{ cm}^{-1}$, aby byly zachyceny vibrační pásy typické pro kaolinit, které se vyskytují v rozmezí $3600\text{ až }3800\text{ cm}^{-1}$, a také pásy polymerů na nižších vlnočtech. V této oblasti lze u PCL pozorovat dva pásy okolo 2867 cm^{-1} a 2913 cm^{-1} odpovídající valenčním vibracím CH_3 skupiny [44]. Polymer PU se v tomto regionu vyznačuje středními pásy okolo 2865 a 2916 cm^{-1} , odpovídající CH_2 valenčním vibracím a nízkým pásem okolo 3062 cm^{-1} odpovídající $=\text{C-H}$ valenční vibraci aromatického kruhu [38]. Pro kaolinit jsou charakteristické dva pásy okolo 3620 cm^{-1} a 3697 cm^{-1} odpovídající Al_2OH valenčním vibracím [41].

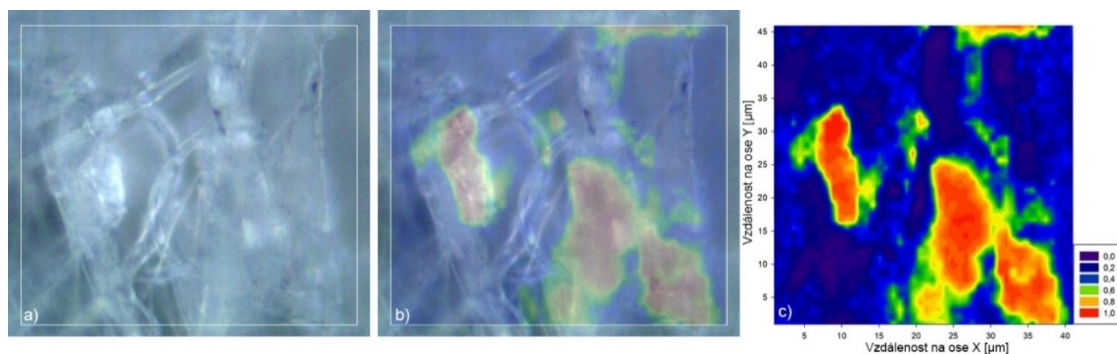
Po interkalaci kaolinitu chlorhexidinem se objevily nové pásy okolo 3250 , 3344 a 3397 cm^{-1} patřící CH nebo interakci CH-Kao. Pozice vibračních pásů odpovídající čistému

kaolinitu zůstávají nezměněny. Intenzita jednotlivých spekter není zobrazena v poměru, proto se intenzita těchto pásů snížila kvůli výrazným pásům chlorhexidinu nebo interakce CH-Kao. Ve spektrech všech nanovláknenných vzorků lze pozorovat pouze pásy patřící Kao, CH/Kao a polymerům PCL nebo PU na přibližně stejném vlnočtu. To znamená, že při přípravě suspenzí nebo ES nedošlo ke změně chemické struktury jílového materiálu ani polymeru. Také nedošlo k vytvoření nových vazeb mezi polymerem a Kao či CH/Kao.

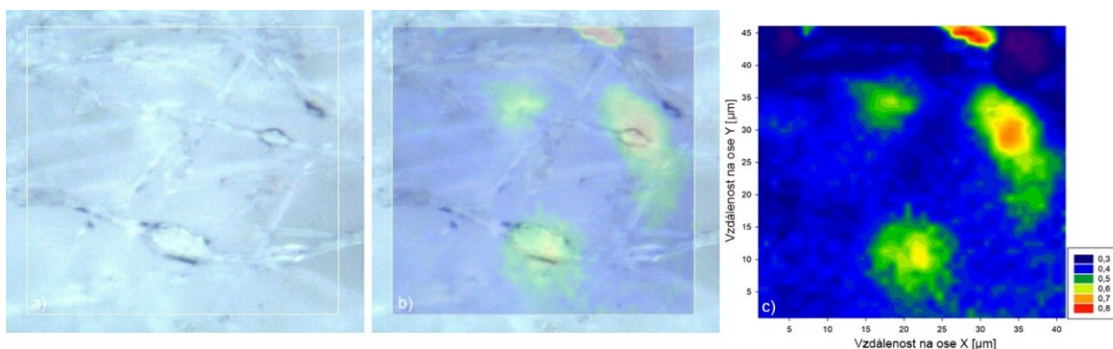


Obrázek 31: Ramanova spektra Kao a CH/Kao v PU a PCL.

Podobně jako u vzorků CH/Ver v PCL a v PU, Ramanovy mapy distribuce CH/Kao v 8CH/Kao_PCL a 8CH/Kao_PU (Obr. 32 a 33) odpovídají snímkům ze světelného mikroskopu těchto oblastí. CH/Kao je v obou vzorcích koncentrován především podél vláken. Opět lze nalézt místa, kde se vyskytují částice čistého kaolinitu (např. na Obr. 32 a) vlevo dole). V těchto oblastech nebyl detekován signál CH/Kao, ale pouze kaolinitu. Toto pozorování potvrzuje výsledky EDX mapování. U vzorku 8CH/Kao_PU byl CH/Kao detekován v malém množství v celé skenované oblasti, vyšší signál odpovídá částicím viditelným na snímku ze světelného mikroskopu.



Obrázek 32: Snímky z digitálního mikroskopu vzorku 8CH/Kao_PCL (zvětšení 100x) a Ramanova mapa distribuce CH/Kao v této oblasti: a) snímek ze světelného mikroskopu, b) snímek překrytý Ramanovou mapou, c) Ramanova mapa distribuce CH/Kao.



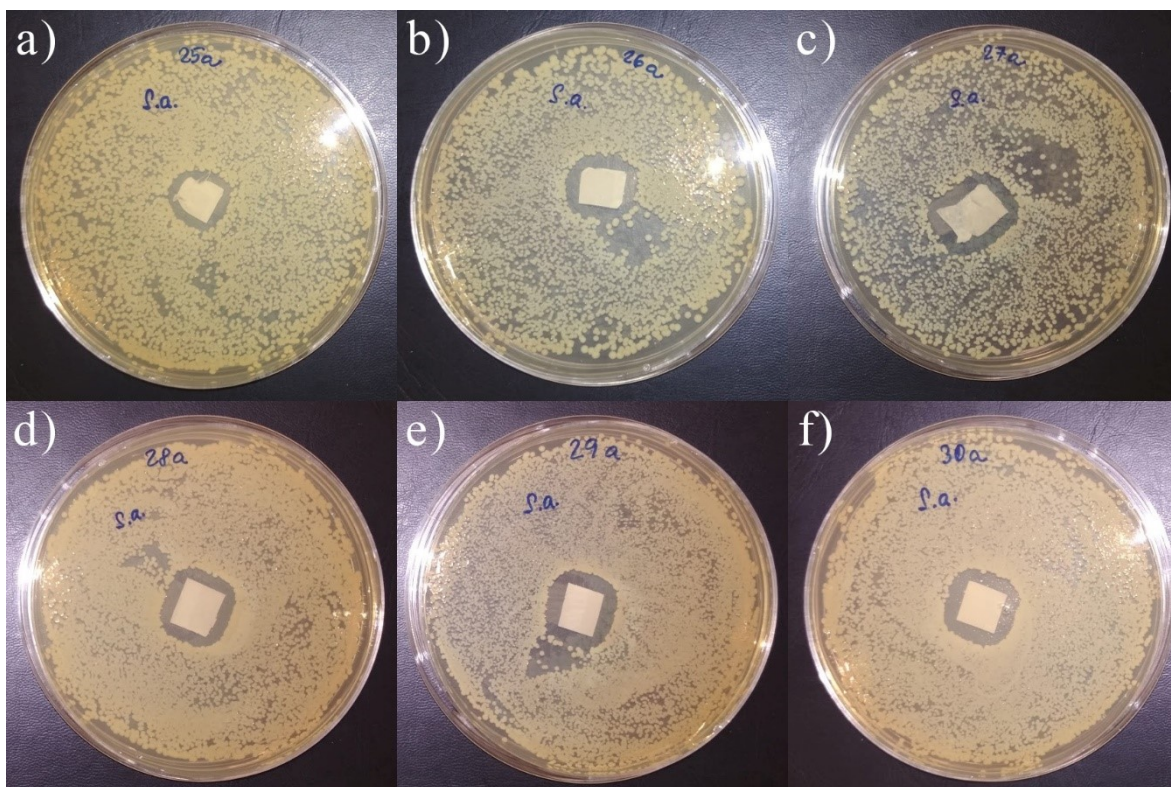
Obrázek 33: Snímky z digitálního mikroskopu vzorku 8CH/Kao_PU (zvětšení 100x) a Ramanova mapa distribuce CH/Kao v této oblasti: a) snímek ze světelného mikroskopu, b) snímek překrytý Ramanovou mapou, c) Ramanova mapa distribuce CH/Kao.

6.6. Antimikrobiální testy

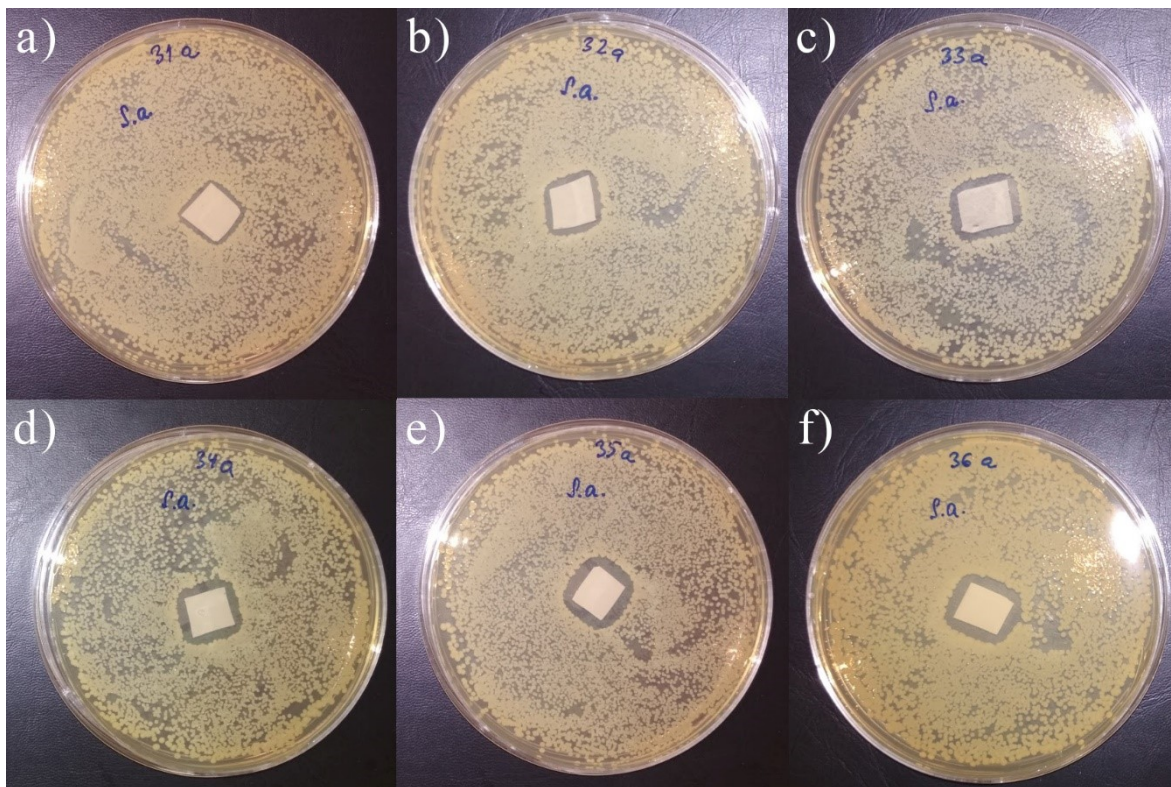
Nanovláknenné vrstvy čistých polymerů, stejně jako vrstvy obsahující nemodifikovaný vermikulit a kaolinit nevykazovaly žádnou antibakteriální účinnost. Vzorky obsahující chlorhexidin vykazovaly antimikrobiální účinek vůči *S. aureus* (Obr. 34, 35). Velikost inhibiční zóny byla ovlivněna koncentrací CH ve vzorku, typem polymeru a typem jílové matrice (Tab. 5). Velikost inhibiční zóny mírně stoupala se zvyšující se koncentrací CH. Lze konstatovat, že v případě nanovláken s polyuretanem a modifikovaným vermikulitem byl antibakteriální účinek vyšší, než v případě nanovláken s polykaprolaktonem a modifikovaným kaolinitem. Účinnost na bakteriální kmen *P. aeruginosa* nebyla pozorována u žádného z testovaných vzorků. Bylo pozorováno, že tento bakteriální kmen je poměrně rezistentní vůči chlorhexidinu a je inhibován pouze při vysoké koncentraci CH [10].

Tab. 5: Inhibiční zóny CH/Ver/polymer, CH/Kao/polymer vrstev a kontrolních vzorků vůči *S. aureus*.

Vzorek	Inhibiční zóna (mm)	Vzorek	Inhibiční zóna (mm)
PU	0	PCL	0
8Ver_PCL	0	8Kao_PCL	0
8Ver_PU	0	8Kao_PU	0
2CH/Ver_PCL	2	2CH/Kao_PCL	1
5CH/Ver_PCL	3	5CH/Kao_PCL	2
8CH/Ver_PCL	3	8CH/Kao_PCL	2
2CH/Ver_PU	3	2CH/Kao_PU	2
5CH/Ver_PU	3	5CH/Kao_PU	3
8CH/Ver_PU	4	8CH/Kao_PU	3



Obrázek 34: Fotografie ukazující velikost inhibiční zóny pro a) 2CH/Ver_PCL, b) 5CH/Ver_PCL, c) 8CH/Ver_PCL, d) 2CH/Ver_PU, e) 5CH/Ver_PU, f) 8CH/Ver_PU vůči *S. aureus*.



Obrázek 35: Fotografie ukazující velikost inhibiční zóny pro a) 2CH/Kao_PCL, b) 5CH/Kao_PCL, c) 8CH/Kao_PCL, d) 2CH/Kao_PU, e) 5CH/Kao_PU, f) 8CH/Kao_PU vůči *S. aureus*.

6.7. Uvolňování chlorhexidinu

Uvolňování chlorhexidinu prostřednictvím testů vyluhovatelnosti bylo provedeno dle Rozhodnutí Rady 2003/33/EC (viz 5.4.5) pouze pro vzorky s nejvyšším obsahem jílu (8 hm. %). V Tab. 6 jsou uvedeny hodnoty absorbance pro jednotlivé vzorky, čím vyšší absorbance, tím se ze vzorku uvolnilo více CH. Nejvíce chlorhexidinu se uvolnilo z vrstvy CH/Ver_PU, poté z CH/Kao_PU, dále z CH/Ver_PCL a nejméně z CH/Kao_PCL. Z těchto výsledků plyne, že lépe se chlorhexidin uvolňoval z polyuretanových nanovlákných vrstev a z vermikulitové matrice.

Tab. 6: Hodnota absorbance při vlnové délce 254 nm.

Vzorek	Absorbance při $\lambda = 254 \text{ nm}$ [-]
8CH/Ver PCL	0,383
8CH/Ver PU	0,429
8CH/Kao PCL	0,306
8CH/Kao PU	0,421

Výše uvedené výsledky korelují s výsledky antimikrobiálních testů – čím více CH se uvolnilo z nanovlákné vrstvy, tím vyšší antibakteriální účinek vzorek vykazoval, tzn. vzorek byl očividně efektivnější vůči bakteriím a zvětšila se velikost inhibiční zóny. Výsledky se také velmi dobře shodují s předpokladem o morfologii nanovláken. SEM snímky naznačují, že jíl s chlorhexidinem byl inkorporován v PCL vláknech, antiseptikum tedy nemohlo být uvolněno tak jednoduše jako v případě PU vláken, kde na povrchu nanovláken bylo více viditelných jílových částic s chlorhexidinem.

7. Závěr

Pomocí elektrostatického zvlákňování byly úspěšně připraveny samonosné nanovlákněné vrstvy s obsahem různé hmotnostní koncentrace jílových minerálů vermikulitu, kaolinitu a těchto jílových minerálů modifikovaných chlorhexidin acetátem. Vrstvy byly připraveny při relativně stejných podmínkách jako čisté polymery. Obsah jílu ve vrstvě se zvyšoval s jejich rostoucí koncentrací ve výchozí suspenzi a jílové částice byly inkorporovány v polymerních vláknech. Průměr vláken se snížil po přidání jílu, avšak nebyla nalezena závislost průměru vláken na koncentraci jílu. Způsob uložení jílových částic v PCL a PU vláknech se lišil. V případě vláken s polykaprolaktonem byly částice často obklopeny polymerem, což způsobilo tvorbu širokých vláken obsahujících jílové částice nebo tenkých vláken čistého polymeru a tím nehomogenní distribuci průměru vláken. Přítomnost jílových částic v PU vláknech většinou neovlivňovala jejich průměr, což vedlo k více homogenní distribuci průměru vláken. Mapováním pomocí EDX a Ramanovy spektroskopie bylo zjištěno, že nedošlo k úplné interkalaci chlorhexidinu do vermikulitové matrice nebo uchycení chlorhexidinu na povrch kaolinitu, jelikož ve vzorcích byly nalezeny oblasti, kde se nacházel pouze chlorhexidin nebo pouze vermikulit/kaolinit. Ramanova spektroskopie ukázala, že při přípravě suspenzí nebo ES nedošlo ke změně chemické struktury jílového materiálu ani polymeru a také nedošlo k vytvoření nových vazeb mezi polymery a jíly. Nanovlákněné vrstvy s CH/Ver a CH/Kao vykazovaly antibakteriální aktivitu vůči *S. aureus*, která byla ovlivněna koncentrací chlorhexidinu ve vzorku, typem polymeru a typem jílové matrice. Nejvyšší antibakteriální účinnost měl vzorek 8CH/Ver_PU. Testy uvolňování chlorhexidinu korelovaly s výsledky antimikrobiálních testů – čím více CH se uvolnilo z nanovlákněné vrstvy, tím byl vzorek efektivnější vůči bakteriím a zvětšila se velikost inhibiční zóny.

Připravené vrstvy mohou být velmi slibným, poměrně levným a snadno vyrobitelným materiálem na poli antibakteriálních aplikací. Jako nejvýhodnější kombinace se jeví 8CH/Ver_PU, protože suspenze byla snadno zvláknitelná, CH/Ver byl ve vláknech homogenně distribuován a vzorek vykazoval nejvyšší antibakteriální aktivitu ze všech připravených vzorků. Využitím interkalace antibakteriálně aktivní látky do matrice jílových materiálů by mohlo být zabráněno burst efektu, který je častým nedostatkem nanovlákněných nosičů a bude tak předmětem dalšího výzkumu v popisované oblasti. Před určením konkrétní aplikace by mělo být provedeno také další testování připravených materiálů jako jejich paropropustnost, dlouhodobá stabilita nebo mechanické vlastnosti.

Seznam citované literatury

- [1] GUGGENHEIM, S. a R. T. MARTIN. Definition of clay mineral: Joint report of the AIPEA Nomenclature and CMS Nomenclature Committees. *Clays and Clay Minerals*. 1995, **1995**(43), 255-256.
- [2] WEISS, Zdeněk a Miloš KUŽVART. *Jílové minerály: jejich nanostruktura a využití*. 1. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 80-246-0868-5.
- [3] YANG, Jae-Hun, Ji-Hee LEE, Hyeon-Ju RYU, Ahmed A. ELZATAHRY, Zeid A. ALOTHMAN a Jin-Ho CHOY. Drug–clay nanohybrids as sustained delivery systems. *Applied Clay Science*. 2016, **130**, 20-32. DOI: 10.1016/j.clay.2016.01.021. ISSN 01691317.
- [4] BRIGATTI, Maria Franca, Angela LAURORA a Chiara ELMI. *Structure and mineralogy of layer silicates: recent perspectives and new trends*. 1. London: European Mineralogical Union and the Mineralogical Society of Great Britain & Ireland, 2011. ISBN 9780903056298.
- [5] ĎUROVIČ, S. Classification of phyllosilicates according to the symmetry of their octahedral sheets. *Ceramics - Silikáty*. 1994, (38), 81-84.
- [6] RIEDER, M., G. CAVAZZINI, Y. S. DYAKONOV et al. Nomenclature of the micas. *Clays and Clay Minerals*. 1998, (46), 586-595.
- [7] HOLEŠOVÁ, Sylva, Jan ŠTEMBÍREK, Ladislava BARTOŠOVÁ, Gabriela PRAŽANOVÁ, Marta VALÁŠKOVÁ, Magda SAMLÍKOVÁ a Erich PAZDZIORA. Antibacterial efficiency of vermiculite/chlorhexidine nanocomposites and results of the in vivo test of harmlessness of vermiculite. *Materials Science and Engineering: C*. 2014, **42**, 466-473. DOI: 10.1016/j.msec.2014.05.054. ISSN 09284931.
- [8] VALÁŠKOVÁ, Marta a Grażyna SIMHA MARTYNKOVÁ. Vermiculite: Structural Properties and Examples of the Use. *Clay Minerals in Nature - Their Characterization, Modification and Application*. 1. Intech, 2012. ISBN 978-953-51-0738-5.

- [9] SAMLÍKOVÁ, Magda, Sylva HOLEŠOVÁ, Marianna HUNDÁKOVÁ, Erich PAZDZIORA, Ľuboš JANKOVIČ a Marta VALÁŠKOVÁ. Preparation of antibacterial chlorhexidine/vermiculite and release study. *International Journal of Mineral Processing*. 2017, **159**, 1-6. DOI: 10.1016/j.minpro.2016.12.002. ISSN 03017516.
- [10] HOLEŠOVÁ, Sylva, Marta VALÁŠKOVÁ, Eva PLEVOVÁ, Erich PAZDZIORA a Kateřina MATĚJOVÁ. Preparation of novel organovermiculites with antibacterial activity using chlorhexidine diacetate. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2010, **342**(2), 593-597. DOI: 10.1016/j.jcis.2009.10.051. ISSN 00219797.
- [11] WECK, Philippe F., Eunja KIM a Carlos F. JOVÉ-COLÓN. Relationship between crystal structure and thermo-mechanical properties of kaolinite clay: beyond standard density functional theory. *Dalton Transactions*. 2015, **44**(28), 12550-12560. DOI: 10.1039/C5DT00590F. ISSN 1477-9226.
- [12] JOU, Seow Khai a Nik Ahmad Nizam Nik MALEK. Characterization and antibacterial activity of chlorhexidine loaded silver-kaolinite. *Applied Clay Science*. 2016, **127-128**, 1-9. DOI: 10.1016/j.clay.2016.04.001. ISSN 01691317.
- [13] HOLEŠOVÁ, Sylva, Marianna HUNDÁKOVÁ a Erich PAZDZIORA. Antibacterial Kaolinite Based Nanocomposites. *Procedia Materials Science*. 2016, **12**, 124-129. DOI: 10.1016/j.mspro.2016.03.022. ISSN 22118128.
- [14] HAIDER, Adnan, Sajjad HAIDER a Inn-Kyu KANG. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry*. 2015. DOI: 10.1016/j.arabjc.2015.11.015. ISSN 18785352.
- [15] JIRSÁK, Jan, Filip MOUČKA a Ivo NEZBEDA. Insight into Electrospinning via Molecular Simulations. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2014, **53**(19), 8257-8264. DOI: 10.1021/ie404268f. ISSN 0888-5885.

- [16] RUTLEDGE, Gregory C. a Sergey V. FRIDRIKH. Formation of fibers by electrospinning. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007, **59**(14), 1384-1391. DOI: 10.1016/j.addr.2007.04.020. ISSN 0169409X.
- [17] LI, Fengyu, Yong ZHAO a Yanlin SONG. Core-Shell Nanofibers: Nano Channel and Capsule by Coaxial Electrospinning. KUMAR, Ashok. *Nanofibers*. IntechOpen, 2010. ISBN 978-953-7619-86-2.
- [18] MEGELSKI, Silke, Jean S. STEPHENS, D. Bruce CHASE a John F. RABOLT. Micro- and Nanostructured Surface Morphology on Electrospun Polymer Fibers. *Macromolecules*. 2002, **35**(22), 8456-8466. DOI: 10.1021/ma020444a. ISSN 0024-9297.
- [19] SUN, B., Y.Z. LONG, H.D. ZHANG, M.M. LI, J.L. DUVAIL, X.Y. JIANG a H.L. YIN. Advances in three-dimensional nanofibrous macrostructures via electrospinning. *Progress in Polymer Science*. 2014, **39**(5), 862-890. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2013.06.002. ISSN 00796700.
- [20] SILL, Travis J. a Horst A. VON RECUM. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*. 2008, **29**(13), 1989-2006. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.01.011. ISSN 01429612.
- [21] PELIPENKO, Jan, Julijana KRISTL, Biljana JANKOVIĆ, Saša BAUMGARTNER a Petra KOCBEK. The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013, **456**(1), 125-134. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.07.078. ISSN 03785173.
- [22] BAE, Hyun-Su, Adnan HAIDER, K. M. Kamruzzaman SELIM, Dong-Yoon KANG, Eun-Jin KIM a Inn-Kyu KANG. Fabrication of highly porous PMMA electrospun fibers and their application in the removal of phenol and iodine. *Journal of Polymer Research*. 2013, **20**(7), 1-7. DOI: 10.1007/s10965-013-0158-9. ISSN 1022-9760.
- [23] ALMUHAMED, Sliman, Magali BONNE, Nabyl KHENOUSSEI, Jocelyne BRENDLE, Laurence SCHACHER, Bénédicte LEBEAU a Dominique C.

ADOLPHE. Electrospinning composite nanofibers of polyacrylonitrile/synthetic Na-montmorillonite. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2016, **35**, 146-152. DOI: 10.1016/j.jiec.2015.12.024. ISSN 1226086X.

- [24] ZAMANI, Maedeh, Molamma P. PRABHAKARAN a Seeram MOLAMMA P PRABHAKARAN. Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine*. 2013, , 2997-3017. DOI: 10.2147/IJN.S43575. ISSN 1178-2013.
- [25] GAO, Yuan, Yen BACH TRUONG, Yonggang ZHU a Ilias LOUIS KYRATZIS. Electrospun Antibacterial Nanofibers: Production, Activity, and In Vivo Applications. *Journal of Applied Polymer Science*. 2014, **131**(18). DOI: 10.1002/app.40797. ISSN 00218995.
- [26] PARK, Jae Hyeung, Hyun Woo LEE, Dong Keun CHAE, Weontae OH, Jae Deuk YUN, Yulin DENG a Jeong Hyun YEUM. Electrospinning and characterization of poly(vinyl alcohol)/chitosan oligosaccharide/clay nanocomposite nanofibers in aqueous solutions. *Colloid and Polymer Science*. 2009, **287**(8), 943-950. DOI: 10.1007/s00396-009-2050-z. ISSN 0303-402X.
- [27] KIM, Se Wook, Seong Ok HAN, I Na SIM, Ja Young CHEON a Won Ho PARK. Fabrication and Characterization of Cellulose Acetate/Montmorillonite Composite Nanofibers by Electrospinning. *Journal of Nanomaterials*. 2015, **2015**, 1-8. DOI: 10.1155/2015/275230. ISSN 1687-4110.
- [28] ISARANKURA NA AYUTTHAYA, Siriorn, Supachok TANPICHAI, Weradesh SANGKHUN a Jatuphorn WOOTTHIKANOKKHAN. Effect of clay content on morphology and processability of electrospun keratin/poly(lactic acid) nanofiber. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016, **85**, 585-595. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.041. ISSN 01418130.
- [29] PRINCE, J.A., G. SINGH, D. RANA, T. MATSUURA, V. ANBHARASI a T.S. SHANMUGASUNDARAM. Preparation and characterization of highly hydrophobic poly(vinylidene fluoride) – Clay nanocomposite nanofiber membranes (PVDF–clay NNMs) for desalination using direct contact membrane

distillation. *Journal of Membrane Science*. 2012, **397–398**, 80-86. DOI: 10.1016/j.memsci.2012.01.012. ISSN 03767388.

- [30] SANGEETHA, K., F. A. ALSHARANI, K. VIJAYALAKSHMI, S. ANIL a P.N. SUDHA. Synthesis and Antioxidant ability of Nanofiber mat prepared using Polyvinyl alcohol and Montmorillonite clay. *IOSR Journal Of Pharmacy*. 2017, **2**, 7-12. ISSN 2250-3013.
- [31] HEYDARY, H. Amiri, E. KARAMIAN, E. POORAZIZI, A. KHANDAN a J. HEYDARIPOUR. A Novel Nano-Fiber of Iranian Gum Tragacanth-Polyvinyl Alcohol/Nanoclay Composite for Wound Healing Applications. *Procedia Materials Science*. 2015, **11**, 176-182. DOI: 10.1016/j.mspro.2015.11.079. ISSN 22118128.
- [32] SAHA, Kasturi, Bhupendra Singh BUTOLA a Mangala JOSHI. Drug-loaded polyurethane/clay nanocomposite nanofibers for topical drug-delivery application. *Journal of Applied Polymer Science*. 2014, **131**(10). DOI: 10.1002/app.40230. ISSN 00218995.
- [33] XUE, Jiajia, Yuzhao NIU, Min GONG a Rui SHI. Electrospun Microfiber Membranes Embedded with Drug-Loaded Clay Nanotubes for Sustained Antimicrobial Protection. *ACS Nano*. 2015, **9**(2), 1600-1612. DOI: 10.1021/nn506255e. ISSN 1936-0851.
- [34] RAMÍREZ-AGUDELO, Ricardo, Karina SCHEUERMANN, Alfonso GALA-GARCÍA a Ana Paula F. MONTEIRO. Hybrid nanofibers based on polycaprolactone/gelatin/hydroxyapatite nanoparticles-loaded Doxycycline: Effective anti-tumoral and antibacterial activity. *Materials Science and Engineering: C*. 2018, **83**, 25-34. DOI: 10.1016/j.msec.2017.08.012. ISSN 09284931.
- [35] KOTZIANOVÁ, Adéla, Jan KLEMEŠ, Ondřej ŽÍDEK, Zdeněk MLYNÁŘ, Marek POKORNÝ a Vladimír VELEBNÝ. Effect of different emitter types on the production of nanofibrous tubular structures: Thickness uniformity and productivity. *AIP Advances*. 2019, **9**(2). DOI: 10.1063/1.5088078. ISSN 2158-3226.

- [36] POKORNÝ, Marek, Jan KLEMEŠ, Adéla KOTZIANOVÁ, Tomáš KOHOUTEK a Vladimír VELEBNÝ. Increased thickness uniformity of large-area nanofibrous layers by electrodynamic spinning. *AIP Advances*. 2017, **7**(10). DOI: 10.1063/1.4998489. ISSN 2158-3226.
- [37] KOTULA, Anthony P., Chad R. SNYDER a Kalman B. MIGLER. Determining conformational order and crystallinity in polycaprolactone via Raman spectroscopy. *Polymer*. 2017, **117**, 1-10. DOI: 10.1016/j.polymer.2017.04.006. ISSN 00323861.
- [38] BRUCKMOSER, Katharina a Katharina RESCH. Investigation of Ageing Mechanisms in Thermoplastic Polyurethanes by Means of IR and Raman Spectroscopy. *Macromolecular Symposia*. 2014, **339**(1), 70-83. DOI: 10.1002/masy.201300140. ISSN 10221360.
- [39] ALEKSEV, V.V., S.V. VLADIMIROV, L.I. MAKLAKOV, V.L. FURER a A.L. FURER. Vibrational Spectra of Some Urethanes and the Assignment of Bands Related to Urethane Group Vibrations. *Zhurnal Prikladnoi Spektroskopii*. 1978, **28**(6), 1053-1056.
- [40] ARAB, Mehdi, Daniel BOUGEARD a Konstantin S. SMIRNOV. Experimental and computer simulation study of the vibrational spectra of vermiculite. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2002, **4**(10), 1957-1963. DOI: 10.1039/b110768b. ISSN 14639076.
- [41] FARMER, V.C. Differing effects of particle size and shape in the infrared and Raman spectra of kaolinite. *Clay Minerals*. 1998, **33**, 601-604.
- [42] YOUNG, Anne M., Poon Yun J. NG, Uwe GBURECK, Showan N. NAZHAT, Jake E. BARRALET a Michael P. HOFMANN. Characterization of chlorhexidine-releasing, fast-setting, brushite bone cements. *Acta Biomaterialia*. 2008, **4**(4), 1081-1088. DOI: 10.1016/j.actbio.2007.12.009. ISSN 17427061.
- [43] JONES, David S., Andrew F. BROWN, A. David WOOLFSON, Andrew C. DENNIS, Lindsey J. MATCHETT a Steven E. J. BELL. Examination of the physical state of chlorhexidine within viscoelastic, bioadhesive semisolids using

raman spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2000, **89**(5), 563-571.
DOI: 10.1002/(SICI)1520-6017(200005)89:5<563::AID-JPS1>3.0.CO;2-Q.

- [44] QIN, Chong-Chong, Xiao-Peng DUAN, Le WANG et al. Melt electrospinning of poly(lactic acid) and polycaprolactone microfibers by using a hand-operated Wimshurst generator. *Nanoscale*. 2015, **7**(40), 16611-16615. DOI: 10.1039/C5NR05367F. ISSN 2040-3364.